



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112016016737-6 B1

(22) Data do Depósito: 21/01/2015

(45) Data de Concessão: 02/01/2024

(54) Título: COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA DETECTAR NUMA AMOSTRA UM ANTICORPO PARA UM EPÍTOPO DE UM ANTÍGENO DE ANAPLASMA, MÉTODO PARA O DIAGNÓSTICO DA ANAPLASMÓSE NUM SUJEITO, KIT, E MÉTODO PARA IDENTIFICAR AS ESPÉCIES DE ANAPLASMA INFECTANDO UM SUJEITO

(51) Int.Cl.: A61K 39/02; A61K 38/00; A61K 38/04; C07K 5/00; C07K 7/00; (...).

(30) Prioridade Unionista: 10/10/2014 US 14/511,916; 21/01/2014 US 61/929,655.

(73) Titular(es): ZOETIS SERVICES LLC.

(72) Inventor(es): RAJESH K. MEHRA; KENNETH P. ARON; DENNIS M. BLEILE; ANDREW P. ROGERS; TIMOTHY P. FORSYTH; JEREMY D. WALKER; CRISTINA R. CUESICO.

(86) Pedido PCT: PCT US2015012187 de 21/01/2015

(87) Publicação PCT: WO 2015/112558 de 30/07/2015

(85) Data do Início da Fase Nacional: 20/07/2016

(57) Resumo: PEPTÍDEOS, DISPOSITIVOS E MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA ANAPLASMA. A invenção fornece populações de peptídeos isolados, úteis para a detecção de anticorpos que se ligam a antígenos de Anaplasma. As populações de peptídeos compreendem os peptídeos derivados de fragmentos imunogênicos das proteínas de Proteína de Membrana Externa de Anaplasma. A invenção também proporciona dispositivos, métodos e kits compreendendo as populações de peptídeos isolados, úteis para a detecção de anticorpos que se ligam a antígenos de Anaplasma e o diagnóstico da anaplasmosse. Os métodos de identificação da espécie particular de Anaplasma infectando um sujeito utilizando as populações de peptídeos da invenção são também divulgados.

**COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA DETECTAR NUMA AMOSTRA UM
ANTICORPO PARA UM EPÍTOPO DE UM ANTÍGENO DE ANAPLASMA,
MÉTODO PARA O DIAGNÓSTICO DA ANAPLASMOSE NUM SUJEITO, KIT, E
MÉTODO PARA IDENTIFICAR AS ESPÉCIES DE ANAPLASMA INFECTANDO
UM SUJEITO**

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

[0001] Este pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório U.S. No. 61/929.655, depositado em 21 de janeiro de 2014, e Pedido U.S. No. 14/511.916, depositado em 10 de outubro de 2014, ambos os quais estão aqui incorporados por referência na sua totalidade.

DESCRIÇÃO DO ARQUIVO DE TEXTO ENVIADO ELETRONICAMENTE

[0002] Os conteúdos do arquivo de texto apresentado eletronicamente em anexo estão aqui incorporados por referência na sua totalidade: uma cópia em formato legível por computador da Listagem de Sequências (nome do arquivo: ABAX_041_01WO _SeqList_ST25.txt, data gravada em 20 de janeiro de 2015, tamanho do arquivo 263 kilobytes).

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[0003] *Anaplasma* são um gênero de bactérias gram-negativas que são patógenos intracelulares obrigatórios capazes de infectar granulócitos, plaquetas e eritrócitos em hospedeiros vertebrados. As bactérias *Anaplasma* são transmitidas para hospedeiros através de vetores artrópodes, particularmente várias espécies de carrapatos. *A. phagocytophilum* infecta e neutrófilos provoca anaplasmoses em mamíferos, incluindo seres humanos. A incidência de anaplasmoses granulocitotrópica humana (ou granulocítica) (HGA, anteriormente conhecida como erliquiose granulocitotrópica humana) tem aumentado de 1,4 casos por milhão de pessoas em 2000 para 6,1 casos por milhão de pessoas em 2010. *A. phagocytophilum* é transmitida principalmente pela *Ixodes spp.* de carrapatos. Devido ao fato desses carrapatos da espécie *Ixodes* também transmitirem *Borrelia burgdorferi* (o agente causador da doença de Lyme), a infecção simultânea com *A. phagocytophilum* e *B. burgdorferi* é comum.

[0004] *A. platys* provoca trombocitopenia cíclica infecciosa através da infecção de plaquetas e pensa-se ser transmitida por carrapatos *Rhipicephalus* e *Dermacentor spp.*. Embora os cães sejam os hospedeiros mais comuns para

infecção por *A. platys*, a infecção em outros mamíferos, incluindo gatos, impalas, e ovelhas, têm sido relatadas. Sabe-se que tem ocorrido a co-infecção por *A. platys* e *Ehrlichia canis* devida ao vetor de transmissão comum.

[0005] Ensaios de imunofluorescência indireta (IFA) e ensaios imunoabsorventes ligados a enzima (ELISA) foram tipicamente utilizados para detectar infecção *Anaplasma*. Estes ensaios detectam a ligação de anticorpos anti-*Anaplasma* a partir do sangue, plasma ou soro de um sujeito, para células infectadas, lisados celulares, ou proteínas inteiras de *Anaplasma* parcialmente purificadas. No entanto, estes ensaios para a detecção de anticorpos anti-*Anaplasma* são limitados em termos de utilidade por causa dos problemas de sensibilidade e especificidade diretamente relacionados com a natureza dos antígenos de *Anaplasma* utilizados nestes testes. Apesar de testes baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) com maior sensibilidade e especificidade terem sido desenvolvidos, existe uma necessidade contínua na técnica para ensaios sensíveis e específicos adicionais para a detecção de antígenos de *Anaplasma* e diagnóstico sorológico da anaplasmosse.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0006] A presente invenção é baseada, em parte, na descoberta de que certas variantes de sequências de fragmentos das proteínas da membrana externa de *Anaplasma* proporcionam detecção robusta de uma resposta de anticorpos contra espécies de *Anaplasma*. Por conseguinte, a invenção fornece composições, dispositivos, métodos e kits úteis para a detecção de anticorpos que ligam aos antígenos de *Anaplasma* e o diagnóstico da anaplasmosse.

[0007] Numa modalidade, a presente invenção proporciona populações de peptídeos capazes de ligar os anticorpos que reconhecem antígenos de *Anaplasma*. Em determinadas modalidades, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, onde cada peptídeo na população compreende uma sequência de Abaxis ID 2, E-T-R-V-A-Y-P-Y-X₉-K-D-G-R-T-V-K-X₁₇-D-S-H-X₂₁-F-D-W-Q-T-P-X₂₈-P-K-X₃₁- G-F-K-D-C (SEQ ID NO: 1) ou um fragmento dos mesmos, em que X₉ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por I, P ou H, X₁₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por I, W, ou Y, X₂₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por R, D, ou N, X₂₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E ou N e X₃₁ é um

aminoácido selecionado do grupo constituído por L ou V. Em outras modalidades, cada peptídeo na população compreende uma sequência de Abaxis ID 3, I-E-X₃-G-Y-E-X₇-F-K-T-X₁₁-G-I-R-X₁₅-S-G-T-K-E-C (SEQ ID NO: 2) ou um fragmento dos mesmos, em que X₃ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por L, V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por K, N ou Q, X₁₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por R, D ou N e X₁₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E, N ou Q.

[0008] Em outra modalidade da invenção, cada peptídeo na população compreende uma sequência de APL-ID1, E-T-K-V-X₅-Y-X₇-Y-L-K-X₁₁-G-R-T-V-K-L-X₁₈-S-H-X₂₁-F-D-W-X₂₅-T-P-X₂₈-P-K-X₃₁-G-F-K-D-G-G-G-G-K-D-G-T-X₄₅-V-E-X₄₈-K-A-X₅₁-K-F-X₅₄-W-N-X₅₇-P-D-X₆₀-R-I-X₆₃-F-K-X₆₆-C (SEQ ID NO: 3) ou um fragmento deste, em que X₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por G, I ou H, X₁₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E, N, ou Q, X₁₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por D ou N, X₂₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por R, D, ou N, X₂₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por Q, D, ou E, X₂₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E ou N, X₃₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por L ou V, X₄₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por K ou Q, X₄₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou V, X₅₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por D ou N, X₅₄ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E ou Q, X₅₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por S ou Q, X₆₀ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou W, X₆₃ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por I ou V, e X₆₆ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por Q ou D. E ainda outra modalidade, cada peptídeo na população compreende uma sequência de APL-ID2, C-K-D-G-T-X₆-V-E-X₉-K-A-X₁₂-K-F-X₁₅-W-N-X₁₈-P-D-X₂₁-R-I-X₂₄-F-K-X₂₇ (SEQ ID NO: 4) ou um fragmento deste, em que X₆ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por K ou Q, X₉ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou V, X₁₂ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por D ou N, X₁₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E ou Q, X₁₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por S ou Q, X₂₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído

por F ou W, X₂₄ é um amino ácido selecionado do grupo constituído por I ou V, e X₂₇ é um amino ácido selecionado do grupo constituído por Q ou D. Em outra modalidade, cada peptídeo na população compreende uma sequência de APL-ID3, C-X₂-G-G-K-S-P-A-R-X₁₀-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-X₂₃-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H (SEQ ID NO: 5) ou um fragmento deste, em que X₂ é um amino ácido selecionado do grupo constituído por I ou V, X₁₀ é um amino ácido selecionado do grupo constituído por S ou Y, e X₂₃ é um amino ácido selecionado do grupo constituído por E ou N. Em certas modalidades, cada peptídeo na população compreende uma sequência de APL-ID5.1, C-G-K-I-L-N-L-V-S-A-V-Q-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H (SEQ ID NO: 6) ou um fragmento deste.

[0009] Em algumas modalidades da invenção, uma população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos, em que cada peptídeo na população na população compreende uma sequência de APL-ID6, C-K-D-G-X₅-R-V-E-X₉-K-A-E-X₁₃-F-N-X₁₆-Q-X₁₈-P-N-P-X₂₂-I-K-Y-R-X₂₇ (SEQ ID NO: 7) ou um fragmento deste, em que X₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por S ou Q, X₉ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou Y, X₁₃ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por R ou H, X₁₆ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por W ou Y, X₁₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por S ou Q, X₂₂ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por K ou H, e X₂₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por N ou D. Em outra modalidade, cada peptídeo na população compreende um sequência de APL-ID7, C-G-K-I-L-N-L-V-S-X₁₀-X₁₁-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H (SEQ ID NO: 8) ou um fragmento deste, em que X₁₀ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por V, L ou I, e X₁₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por A ou L. Em ainda outra modalidade, cada peptídeo na população compreende um sequência de APID 2-1, E-T-K-V-X₅-Y-X₇-Y-L-K-X₁₁-G-R-T-V-K-L-D-S-H-X₂₁-F-D-W-X₂₅-T-P-X₂₈-P-K-X₃₁-G-F-K-D-C (SEQ ID NO: 9) ou um fragmento deste, em que X₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por G, I ou H, X₁₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E, N, ou Q, X₂₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por R, D, ou N, X₂₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído

por Q, D, ou E, X_{28} é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E ou N, e X_{31} é um aminoácido selecionado do grupo constituído por L ou V.

[0010] Em certas modalidades, as populações de *Anaplasma* peptídeos podem ainda compreender um ou mais peptídeos antigênicos de outras espécies microbianas. Numa modalidade, a população de peptídeos de *Anaplasma* compreende ainda um ou mais peptídeos antigênicos de uma espécie *Ehrlichia* (por exemplo, *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* e *E. muris*), e/ou uma espécie de *Borrelia* (por exemplo, *B. burgdorferi*, *B. afzelii* ou *B. garinii*).

[0011] Os peptídeos da invenção podem compreender pelo menos 20, 30, 35, 40, 45, 50 ou mais aminoácidos. Em algumas modalidades, os peptídeos da invenção são peptídeos isolados (por exemplo, sintéticos e/ou purificados). Em modalidades particulares, os peptídeos da presente invenção são conjugados com um ligante. Por exemplo, em certas modalidades, os peptídeos são biotinilados. Em outras modalidades, os peptídeos são conjugados com estreptavidina, avidina ou neutravidina. Em outras modalidades, os peptídeos são conjugados com uma proteína carreadora (por exemplo, albumina sérica, hemocianina de lapa californiana (KLH), ou um domínio Fc de imunoglobulina). Em ainda outras modalidades, os peptídeos são conjugados com um dendrímero e/ou fazem parte de um sistema de peptídeos antigênicos múltiplos (MAPS). Em certas modalidades, os peptídeos são conjugados com uma entidade detectável ou marcador, tal como uma enzima, um nanomaterial metálico, ou um fluoróforo. Em certas modalidades, os peptídeos são conjugados com nanopartículas metálicas, nanoshells, nanoplacas, nano-anéis ou nanobastões.

[0012] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção são ligados ou imobilizados num suporte sólido. Numa modalidade, os peptídeos da invenção são ligados a um suporte sólido através de uma nanocamada metálica. Em certas modalidades, o suporte sólido é um grânulo ou uma pluralidade de grânulos (por exemplo, uma partícula coloidal, nanomaterial metálico, tal como nanopartículas, nanoplaca, ou nanoshell, esférula de látex, etc.), um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral (por exemplo, uma membrana porosa), um blot (Western blot, uma transferência de ranhura, ou dot blot), um trajeto de escoamento num rotor analítico ou centrífuga, ou um tubo ou cavidade (por exemplo, em uma placa adequada para um ensaio de ELISA).

[0013] Num aspecto, a presente invenção proporciona uma composição compreendendo uma ou mais populações de peptídeos isolados aqui descritos.

[0014] Em algumas modalidades, a composição compreende uma população de peptídeos isolados, a referida população que compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência, ou de um seu fragmento, da SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou 9.

[0015] Em certas modalidades, a composição compreende ainda um ou mais peptídeos antigênicos de uma espécie de *Anaplasma*, uma espécie de *Ehrlichia*, e/ou uma espécie de *Borrelia*.

[0016] Em algumas modalidades, a composição compreende pelo menos duas populações diferentes de peptídeos aqui descritos. Em certas modalidades, pelo menos uma das populações peptídicas é definida pela SEQ ID NO: 3. Por exemplo, numa modalidade, pelo menos uma das populações de peptídeos compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência, ou de um seu fragmento, de SEQ ID NO: 3.

[0017] Em certas modalidades, a composição compreende ainda uma segunda população de peptídeos isolados. Em algumas modalidades, a segunda população de peptídeo é definida por SEQ ID NO: 7. Em algumas outras modalidades, cada peptídeo na segunda população do peptídeo compreende a sequência, ou um seu fragmento, de SEQ ID NO: 6.

[0018] Em algumas modalidades, a composição compreende ainda uma terceira população de peptídeos isolados que é diferente das primeira e segunda populações de peptídeos. Em certas modalidades, cada peptídeo na terceira população de peptídeo compreende a sequência, ou um seu fragmento, de SEQ ID NO: 6.

[0019] Num outro aspecto, a presente invenção também fornece um método para detectar numa amostra de um anticorpo para um epítipo de um antígeno de *Anaplasma*. Numa modalidade, o método compreende o contato de uma amostra com um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção; e detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo que compreende o peptídeo ou um ou mais peptídeos na população, em que a formação do complexo é indicativo de um anticorpo para um epítipo de um antígeno de

Anaplasma estar presente na amostra. Os métodos podem ser utilizados para detectar anticorpos contra antígenos de espécies de *A. phagocytophilum*, *A. platys* ou *A. marginale*.

[0020] Numa outra modalidade, a presente invenção proporciona um método para o diagnóstico da anaplasmosse ou trombocitopenia cíclica num indivíduo. Numa modalidade, o método compreende o contato de uma amostra do sujeito com um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção; e detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo que compreende o peptídeo ou um ou mais peptídeos na população, em que a formação do complexo é indicativa do sujeito tendo anaplasmosse ou trombocitopenia cíclica.

[0021] A presente invenção também inclui um método para identificar as espécies de *Anaplasma* infectando um sujeito. Em uma modalidade, o método compreende entrar em contato com uma amostra do sujeito com um primeiro peptídeo ou a primeira população de peptídeos e um segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos, onde o primeiro peptídeo ou primeira população de peptídeos vincula especificamente anticorpos contra antígenos de várias espécies de *Anaplasma*, e em que a segunda população peptídeo ou segundo peptídeos especificamente vincula anticorpos contra antígenos de uma única espécie de *Anaplasma* ; detectar a formação de um primeiro anticorpo-peptídeo complexo compreendendo o referido primeiro peptídeo ou peptídeos de uma ou mais na primeira população; e detectar a formação de um segundo anticorpo-peptídeo complexos compreendendo o referido segundo peptídeo ou um ou mais peptídeos na segunda população, onde a formação de ambos os complexos do primeiro e segundo anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com a espécie de *Anaplasma* que está especificamente vinculada a segunda população dos peptídeos isolados.

[0022] Em certas modalidades do método, o primeiro peptídeo ou primeira população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum*, *A. platys* e *A. marginale*. Em outras modalidades, o primeiro peptídeo ou primeira população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum* e *A. platys*. Em algumas modalidades, o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. platys*. Em outras modalidades, o segundo

peptídeo ou segunda população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum*. Em uma modalidade do método, o primeiro peptídeo ou primeira população de peptídeos é definido por SEQ ID NO: 3 e o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos é definida por SEQ ID NO: 4, e a formação de ambos o primeiro e segundo complexos de anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com *A. platys*. Numa outra modalidade do método, o primeiro peptídeo ou primeira população de peptídeos é definido por SEQ ID NO: 3 e o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos é definida por SEQ ID NO: 4, e a formação do primeiro anticorpo-peptídeo complexo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*.

[0023] Em outras modalidades, o método para identificar as espécies de *Anaplasma* infectando um sujeito compreende o contato de uma amostra do sujeito com uma primeira população de peptídeos e um extrato celular de uma única espécie *Anaplasma*, em que a primeira população de peptídeos isolados se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de múltiplas espécies *Anaplasma*; detectar a formação de um complexo primeiro anticorpo-peptídeo que compreende um ou mais peptídeos na primeira população; e detectar a formação de um complexo de extrato de células de anticorpo que compreende um ou mais componentes do extrato celular, em que a formação de ambos o primeiro extrato de células anticorpo complexo e anticorpo-peptídeo complexo indicam que o sujeito está infectado com as espécies de *Anaplasma* produzidas no extrato celular.

[0024] Em qualquer dos métodos descritos acima e aqui, o peptídeo ou a população de peptídeos pode, em algumas modalidades, serem ligados ou imobilizados sobre um suporte sólido. Numa tal modalidade, o peptídeo ou a população de peptídeos está ligado ao suporte sólido através de uma nanocamada metálica (*por exemplo*, ouro). Em certas modalidades, o suporte sólido é um grânulo ou uma pluralidade de grânulos (*por exemplo*, uma partícula coloidal, um nanomaterial metálico, tal como nanopartículas, nanoplaca, nanoshell, nanobastões, uma esférula de látex, etc.), um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral (*por exemplo*, uma membrana porosa), um trajeto de escoamento num rotor analítico ou centrífuga, um blot (Western blot,

uma ranhura blot, ou dot blot), ou um tubo ou uma cavidade (*por exemplo*, em uma placa adequada para um ensaio de ELISA). Em algumas modalidades, o suporte sólido compreende de metal, vidro, um material à base de celulose (*por exemplo*, nitrocelulose), ou um polímero (*por exemplo*, poliestireno, polietileno, polipropileno, poliéster, nylon, polissulfona, etc.). Em outras modalidades, o peptídeo ou a população de diferentes peptídeos é ligado a um dendrímero e/ou incorporados num sistema de peptídeo antigênico múltiplo (MAPS) do sistema. Em certas outras modalidades, o peptídeo ou a população de diferentes peptídeos é ligado a BSA, KLH, ovalbumina ou com um carreador similar.

[0025] Em qualquer dos métodos descritos acima e aqui, a etapa de detecção pode incluir a realização de um ensaio de ELISA. Em outras modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um imunoenensaio de fluxo lateral. Em outras modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um ensaio de aglutinação. Em outras modalidades, a etapa de detecção compreende a fiação da amostra num rotor de centrífuga ou analítica. Em outras modalidades, a etapa de detecção compreende a análise da amostra, utilizando um Western blot, uma slot blot, ou um dot blot. Em ainda outras modalidades, a etapa de detecção compreende analisar a amostra com um sensor eletroquímico, um sensor óptico, ou um sensor opto-eletrônico. Em certas modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um teste de desvio de comprimento de onda. Em certas modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um teste com anticorpo fluorescente indireto.

[0026] A amostra do sujeito usada em qualquer dos métodos descritos acima e aqui, em algumas modalidades, é um fluido corporal, tal como sangue, soro, plasma, fluido cerebrospinal, urina, muco, ou saliva. Em outras modalidades, a amostra é um tecido (*por exemplo*, um homogenato de tecido) ou um lisado celular. Em certas modalidades, a amostra é de um animal selvagem (*por exemplo*, um veado ou roedor, tal como um camundongo, tâmara, esquilo, etc.). Em outras modalidades, a amostra é de um animal de laboratório (*por exemplo*, um camundongo, rato, porquinho-da-Índia, coelho, macaco, primata, etc.). Em outras modalidades, a amostra é de um animal domesticado ou selvagens (*por exemplo*, um cão, um gato, um cavalo). Em ainda outras modalidades, a amostra é de um ser humano.

[0027] A presente invenção também inclui kits que compreendem um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção. Numa modalidade, o kit compreende, pelo menos, uma população de peptídeos da presente invenção e um reagente marcador capaz de se ligar a um anticorpo que reconhece um epítopo de um ou mais peptídeos na população. O reagente de marcação pode ser um anti-humano, anti-canino ou anti-IgG de felino ou anticorpo IgM conjugado com um marcador detectável. Em outras modalidades, o reagente de marcação é a proteína A, proteína G, e/ou uma proteína A/G da proteína de fusão conjugada com um marcador detectável. Em modalidades relacionadas, o marcador detectável é uma enzima, um nanomaterial metálico, fluoróforo, ou partícula de látex colorida. Exemplos de nanomateriais metálicos incluem, mas não estão limitados a nanopartículas metálicas, nanoshells, nano-anéis, nanobastões, e nanoplacas.

[0028] Em certas modalidades, os peptídeos do kit são ligados ou imobilizados num suporte sólido opcionalmente através de uma nanocamada metálica. Em certas modalidades, o suporte sólido é um grânulo (*por exemplo*, uma partícula coloidal, um nanomaterial metálico, tal como nanopartículas, nanoplaca, ou nanoshell, um grânulo de látex, etc.), um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral, um percurso de escoamento num rotor analítico ou centrífuga, ou um tubo ou uma cavidade (*por exemplo*, em uma placa). Em algumas modalidades, o peptídeo ou peptídeos no kit estão associados a um dendrímero e/ou incorporados nos sistemas de mapas. Em certas modalidades, o peptídeo ou uma mistura de diferentes peptídeos é ligado a BSA.

[0029] Em algumas modalidades, os kits compreendem ainda uma população de grânulos ou de uma placa (*por exemplo*, uma placa adequada para um ensaio ELISA). Em outras modalidades, os kits compreendem ainda um dispositivo, tal como um dispositivo de lateral imunoensaio de fluxo, um rotor analítico ou centrífuga, uma Western blot, um dot blot, uma ranhura blot, um sensor eletroquímico, um sensor óptico, ou um sensor opto-eletrônico. Em certas modalidades, a população de grânulos, a placa, ou o dispositivo é útil para a realização de um imunoensaio. Por exemplo, em certas modalidades, a população de grânulos, a placa, ou o dispositivo é útil para detectar a formação de

um complexo anticorpo-peptídeo compreendendo um anticorpo a partir de uma amostra e um peptídeo da presente invenção. Em certas modalidades, um peptídeo ou uma população de diferentes peptídeos da invenção é ligado ou imobilizado sobre os grânulos, a placa, ou o dispositivo.

[0030] Os kits da invenção podem ainda compreender um conjunto de instruções que indicam, por exemplo, para utilizar como um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção para detectar um anticorpo para um antígeno de *Anaplasma* ou para diagnosticar anaplasmosose ou trombocitopenia cíclica num indivíduo. Em certas modalidades, os kits compreendem uma instrução que indica como utilizar uma população de grânulos, uma placa, ou de um dispositivo (*por exemplo*, compreendendo um peptídeo ou uma população de diferentes peptídeos da presente invenção) para detectar um anticorpo para um ou mais antígenos de *Anaplasma* ou para diagnosticar anaplasmosose ou trombocitopenia cíclica.

[0031] Outros aspectos e modalidades da invenção serão evidentes a partir da descrição pormenorizada que se segue.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0032] **A Figura 1** é um diagrama de um ensaio duplo sanduíche antígeno que pode ser utilizado para detectar anticorpos para antígenos de *Anaplasma*. Nesta modalidade, os peptídeos da invenção são imobilizados a um substrato adequado (*por exemplo*, membrana de nitrocelulose, cavidade de uma placa de ELISA) a um local de teste. Os anticorpos para antígenos de *Anaplasma* em uma amostra de teste estão vinculados aos peptídeos imobilizados da invenção. Anticorpos da amostra de ensaio para adequados antígenos de *Anaplasma* irão então se ligar a um segundo conjunto de peptídeos da invenção que são conjugados com um marcador detectável (*por exemplo*, nanomaterial metálico, como nanopartículas, nanoplaca ou nanoshell (*por exemplo*, ouro coloidal), peroxidase de rábano (HRP), fosfatase alcalina (ALP), β -galactosidase (β -GAL), fluoróforo, partículas de látex coloridas, quantum dot), que detecta a presença de anticorpos ligados ao primeiro conjunto de peptídeos imobilizados no local de teste. Em certas modalidades, para amplificar o sinal de detecção, moléculas da proteína A e/ou proteína G conjugadas a um marcador detectável (*por exemplo*, nanomaterial metálico, como nanopartículas, nanoplaca ou nanoshell (*por*

exemplo, ouro coloidal), HRP, ALP, β -GAL, fluoróforo, partículas de látex coloridas, quantum dot) pode ser aplicada ao local de ensaio em que eles vão ligar a região Fc de anticorpos de quaisquer antígenos de *Anaplasma* capturados pelos peptídeos imobilizados da invenção.

[0033] **A Figura 2** é um diagrama de um tipo de ensaio em sanduíche indireto que pode ser usado para detectar anticorpos para antígenos *Anaplasma*. Nesta modalidade, anticorpos IgG/IgM anti-humano, IgG/IgM de anti-cachorro, ou IgG/IgM anti-gato são imobilizados a um substrato adequado (*por exemplo*, membrana de nitrocelulose, cavidade de uma placa de ELISA) a um local de teste. Os anticorpos para antígenos *Anaplasma* em uma amostra de teste estão vinculados aos anticorpos imobilizados. Anticorpos da amostra de ensaio para antígenos adequados *Anaplasma* irá então ligar-se aos peptídeos da invenção, que são conjugados com um marcador detectável (*por exemplo*, nanomaterial metálico, como nanopartículas, nanoplaca ou nanoshell (*por exemplo*, Ouro coloidal), HRP, ALP, β -GAL, fluoróforo, partículas de látex colorido, ou ponto quântico).

[0034] **A Figura 3** é um diagrama de um outro tipo de ensaio em sanduíche indireto que pode ser usado para detectar anticorpos para antígenos *Anaplasma*. Nesta modalidade, os peptídeos da invenção podem ser imobilizados num substrato (*por exemplo*, membrana de nitrocelulose, cavidade de uma placa de ELISA) para capturar anticorpos anti-*Anaplasma* numa amostra de teste. Anticorpos IgG/IgM de anti-humanos, IgG/IgM de anti-cachorro, ou IgG/IgM de anti-gato conjugados com um marcador detectável (*por exemplo*, nanomaterial metálico, como nanopartículas, nanoplaca ou nanoshell (*por exemplo*, ouro coloidal), HRP, ALP, β -GAL, fluoróforo, partículas de látex coloridas, quantum dot) podem ser usados para detectar a presença de anticorpos ligados a peptídeos imobilizados no local de teste.

[0035] **A Figura 4** é um diagrama de um dispositivo de imunoensaio que podem ser utilizados para detectar anticorpos para antígenos de *Anaplasma*. Nesta modalidade de um dispositivo do imunoensaio, os peptídeos da invenção são imobilizados a um substrato adequado (*por exemplo*, membrana de nitrocelulose, cavidade de uma placa de ELISA) a um local de teste. Anticorpos anti-*Anaplasma* em uma amostra de teste são ligados pelos peptídeos

imobilizados da invenção. Proteína A, Proteína G, ou uma Proteína A/G da proteína de fusão conjugada com um marcador detectável (*por exemplo*, nanomaterial metálico, como nanopartículas, nanoplaca ou nanoshell (*por exemplo*, ouro coloidal), HRP, ALP, β -GAL, fluoróforo, partículas de látex coloridas, quantum dot) é adicionada ao sistema e se liga à porção Fc do anticorpo anti-*Anaplasma* capturado, produzindo, assim, um sinal positivo. Nesta modalidade, o dispositivo pode compreender ainda um local de controle em que os parceiros de ligação que reconhecem a proteína A do marcador conjugado detectável, proteína G do marcador conjugado detectável, e/ou proteína A/G de fusão do marcador conjugado detectável são imobilizadas. Tais parceiros de ligação podem incluir, mas não estão limitados a anti-proteína A, anti-proteína G, IgG de camundongo, outras moléculas e/ou semelhantes de IgG.

[0036] **A Figura 5** é um gráfico de linha de dezenas de ELISA (OD650 nm) com peptídeos APL-ID1 das amostras de plasma tiradas em vários intervalos de cães infectados com qualquer *A. phagocytophilum* (Cão 3-13) ou *platys A.* (Cão 15-13).

[0037] **A Figura 6** é um gráfico de linha de dezenas de ELISA (OD650 nm) com peptídeos APL-ID2 de amostras de plasma tiradas em vários intervalos de cães infectados com qualquer *A. phagocytophilum* (Cão 3-13) ou *A. platys* (Cão 15-13).

[0038] **A Figura 7** descreve um exemplo de um dispositivo de ensaio de escoamento lateral que pode ser utilizado para detectar anticorpos para antígenos de *Anaplasma*. Os peptídeos da invenção são ligados a uma proteína carreadora (*por exemplo* albumina de soro de bovino) e as resultantes de peptídeos conjugados por BSA são imobilizadas num nitrocelulose (NC) da membrana num local de ensaio (T). Os mesmos peptídeos conjugados por BSA são conjugados com um marcador detectável (*por exemplo*, ouro coloidal) e depositados numa almofada do conjugado posicionado a montante do local de teste. Proteína de ouro conjugado com proteína A e ouro conjugado com G (*isto é* amplificador) é adicionado à almofada do conjugado para melhorar o sinal através da ligação com a porção Fc do anticorpo anti-*Anaplasma* capturado. O dispositivo compreende ainda um local de controle (C) em que os parceiros de ligação que reconhecem a proteína A de ouro conjugado e/ou proteína G de ouro conjugado são

imobilizadas.

[0039] A **Figura 8** ilustra o funcionamento do dispositivo de ensaio de fluxo lateral na Figura 7. Uma amostra de teste é aplicada à porta de amostragem do dispositivo e mobiliza os conjugados de peptídeos presentes na almofada de conjugado. Quaisquer anticorpos anti-*Anaplasma* presentes na amostra de teste irá ligar-se especificamente aos conjugados de peptídeos e os complexos formados irão migrar para a membrana de nitrocelulose contendo os locais de teste e de controle. Os complexos de peptídeo-anticorpo marcado são capturados por peptídeos imobilizados da presente invenção no local de teste. Proteína A de ouro conjugado com proteína G de ouro conjugado também presente na almofada do conjugado são mobilizadas pela amostra e se ligam às regiões Fc de moléculas IgG e IgM presentes na amostra. A ligação da proteína A de ouro conjugado e/ou proteína G para os complexos de peptídeo-anticorpo capturado amplifica o sinal no local de teste. Proteína A do ouro conjugado e/ou proteína G do ouro conjugado é capturado por um parceiro de ligação (*por exemplo* anticorpo anti-Proteína A e/ou anti-Proteína G) imobilizado no local de controle, produzindo assim um sinal que indica que o dispositivo está operacional.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0040] A presente invenção é baseada, em parte, na descoberta de que certas variantes de sequências de fragmentos das *Anaplasma* proteínas da membrana externa para fornecer detecção robusta de uma resposta de anticorpos contra espécies de *Anaplasma*. Por conseguinte, a invenção proporciona composições, dispositivos, métodos e kits úteis para a detecção de anticorpos que ligam a antígenos de *Anaplasma* e o diagnóstico da anaplasmoze.

[0041] O termo "antígeno", tal como aqui utilizado, refere-se a uma molécula capaz de ser reconhecida por um anticorpo. Um antígeno pode ser, por exemplo, um peptídeo ou uma sua forma modificada. Um antígeno pode compreender um ou mais epítomos.

[0042] O termo "epítomo", tal como aqui utilizado, é uma porção de um antígeno que é reconhecido especificamente por um anticorpo. Um epítomo, por exemplo, pode compreender ou consistir de uma porção de um peptídeo (*por exemplo*, um peptídeo da presente invenção). Um epítomo pode ser um epítomo linear, epítomo sequencial, ou um epítomo conformacional. Em certas

modalidades, os epítomos podem compreender regiões não contíguas.

[0043] Os termos "ácido nucleico", "oligonucleotídeos" e "polinucleotídeos" são aqui utilizados indiferentemente e compreendem DNA, RNA, cDNA, quer de cadeia simples ou de cadeia dupla, assim como modificações químicas destes.

[0044] As abreviaturas de aminoácidos de letra única aqui utilizadas têm o seu significado convencional na técnica, e todas as sequências peptídicas aqui descritas são escritas de acordo com a convenção, com a extremidade do terminal N à esquerda e a extremidade do terminal C à direita.

Composições e Dispositivos

[0045] A presente invenção proporciona peptídeos isolados capazes de se ligarem a anticorpos que reconhecem antígenos *Anaplasma* e os dispositivos que incorporem tais peptídeos. Numa modalidade, a presente invenção proporciona uma população de peptídeos isolados que compreendem três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de Abaxis ID 2 (SEQ ID NO: 1), Abaxis ID 3 (SEQ ID NO: 2), a APL-ID1 (SEQ ID NO: 3), a APL-ID2 (SEQ ID NO: 4), a APL-ID3 (SEQ ID NO: 5), a APL-ID5.1 (SEQ ID NO: 6), APL-ID6 (SEQ ID NO: 7), a APL-ID7 (SEQ ID NO: 8), APID 2-1 (SEQ ID NO: 9), ou os seus fragmentos. Por exemplo, numa modalidade, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de E-T-R-V-A-Y-P-Y-X₉-K-D-G-R-T-V-K-X₁₇-D-S-H-X₂₁-F-D-W-Q-T-P-X₂₈-P-K-X₃₁-G-F-K-D-C (SEQ ID NO: 1), ou um fragmento deste, em que X₉ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste de I, P ou H, X₁₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste de I, W ou Y, X₂₁ é um aminoácido selecionado de entre o grupo consistindo de R, D, ou N, X₂₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste de E ou N, e X₃₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em L ou V.

[0046] Em algumas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 1, em que X₂₈ é N e/ou X₃₁ é V. Em outras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 1, em que X₉ é P, X₁₇ é I, e/ou X₂₁ é N. Em certas modalidades, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos que compreendem ou que consistem em qualquer uma das sequências na Tabela 1.

Tabela 1. Peptídeos Abaxis ID 2

Sequência	SEQ ID NO.
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	10
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	11
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	12
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	13
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	14
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	15
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	16
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	17
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	18
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	19
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	20
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	21
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	22
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	23
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	24
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	25
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	26
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	27
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	28
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	29
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	30
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	31
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-	32

Sequência	SEQ ID NO.
F-K-D-C	
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	33
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	34
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	35
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	36
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	37
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	38
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	39
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	40
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	41
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	42
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	43
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	44
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	45
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	46
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	47
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	48
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	49
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	50
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	51
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	52
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	53
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	54
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	55

Sequência	SEQ ID NO.
K-D-C	
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	56
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	57
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	58
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	59
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	60
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	61
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	62
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	63
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	64
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	65
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	66
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	67
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	68
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	69
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	70
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	71
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	72
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	73
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	74
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	75
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	76
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	77
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	78

Sequência	SEQ ID NO.
F-K-D-C	
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	79
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	80
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	81
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	82
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	83
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	84
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	85
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	86
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	87
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	88
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	89
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-V-G-F-K-D-C	90
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	91
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	92
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	93
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	94
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	95
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	96
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	97
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	98
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	99
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	100
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-	101

Sequência	SEQ ID NO.
F-K-D-C	
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	102
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	103
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	104
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	105
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	106
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	107
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	108
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	109
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	110
E-T-R-V-A-Y-P-Y-I-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	111
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	112
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	113
E-T-R-V-A-Y-P-Y-P-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	114
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-I-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	115
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-W-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	116
E-T-R-V-A-Y-P-Y-H-K-D-G-R-T-V-K-Y-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	117

[0047] Em outra modalidade, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, onde cada peptídeo na população compreende uma sequência de I-E-X₃- G-Y-E-X₇-F-K-T-X₁₁- G-I-R-X₁₅-S-G-T-K-E-C (SEQ ID N: 2), ou um fragmento dos mesmos, em que X₃ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por L, V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por K, N ou Q, X₁₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por R, D ou N e X₁₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído E, N ou Q. Em algumas modalidades, peptídeos da invenção compreendem uma sequência da SEQ ID N: 2, em que X₃ é o A, e/ou X₇ é N. Em outras modalidades,

peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID N: 2, em que X₁₁ é R, e/ou X₁₅ Q. Em modalidades particulares, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos compreendendo ou consistindo de qualquer uma das sequências na Tabela 2.

Tabela 2. Peptídeos Abaxis ID 3

Sequência	SEQ ID NO.
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	118
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	119
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	120
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	121
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	122
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	123
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	124
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	125
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	126
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	127
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	128
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	129
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	130
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	131
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	132
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	133
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	134
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	135
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	136
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	137
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	138
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	139
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	140
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	141
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	142
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	143
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-E-S-G-T-K-E-C	144
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	145
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	146
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	147
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	148
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	149
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	150
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	151
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	152
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	153
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	154
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	155
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	156

Sequência	SEQ ID NO.
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	157
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	158
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	159
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	160
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	161
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	162
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	163
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	164
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	165
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	166
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	167
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	168
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	169
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	170
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-N-S-G-T-K-E-C	171
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	172
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	173
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	174
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	175
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	176
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	177
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	178
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	179
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-R-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	180
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	181
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	182
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	183
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	184
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	185
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	186
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	187
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	188
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-D-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	189
I-E-L-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	190
I-E-L-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	191
I-E-L-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	192
I-E-V-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	193
I-E-A-G-Y-E-K-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	194
I-E-V-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	195
I-E-V-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	196
I-E-A-G-Y-E-N-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	197
I-E-A-G-Y-E-Q-F-K-T-N-G-I-R-Q-S-G-T-K-E-C	198

[0048] Em certas modalidades, a população dos peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que o peptídeo na população compreende uma sequência de E-T-K-V-X₅-Y-X₇-Y-L-K-X₁₁-G-R-T-V-K-L-X₁₈-S-H-

X₂₁-F-D-W-X₂₅-T-P-X₂₈-P-K-X₃₁-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-X₄₅-V-E-X₄₈-K-A-X₅₁-K-F-X₅₄-W-N-X₅₇-P-D-X₆₀-R-I-X₆₃-F-K-X₆₆-C (SEQ ID NO: 3), ou um fragmento deste, em que X₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por G, I ou H, X₁₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E, N, ou Q, X₁₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por D ou N, X₂₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por R, D, ou N, X₂₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por Q, D, ou E, X₂₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E ou N, X₃₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por L ou V, X₄₅ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por K ou Q, X₄₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou V, X₅₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por D ou N, X₅₄ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por E ou Q, X₅₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por S ou Q, X₆₀ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou W, X₆₃ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por I ou V, e X₆₆ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por Q ou D.

[0049] Nas modalidades relacionadas, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 3, em que X₅ é A, X₁₈ é D, e/ou X₃₁ é V. Em outras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 3, em que X₄₅ é Q, X₄₈ é F, e/ou X₅₁ é N. Ainda noutras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência da SEQ ID NO: 3, em que X₅₄ é E, X₅₇ é S, e/ou X₆₀ é W. Em algumas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência da SEQ ID NO: 3, em que X₆₃ é I e/ou X₆₆ é D. Nas modalidades particulares, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos que compreendem ou que consistem em qualquer uma das sequências na Tabela 3.

Tabela 3. Peptídeos APL-ID1

Sequência	SEQ ID NO.
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	199
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	200

Sequência	SEQ ID NO.
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	201
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	202
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	203
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	204
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	205
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	206
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	207
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	208
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	209
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	210
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	211
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	212
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	213
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	214
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	215
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-	216

Sequência	SEQ ID NO.
K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	217
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	218
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	219
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	220
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	221
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	222
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	223
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	224
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	225
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	226
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	227
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	228
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	229
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	230
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	231

Sequência	SEQ ID NO.
C	
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	232
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	233
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	234
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	235
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	236
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	237
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	238
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	239
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	240
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	241
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	242
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	243
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	244
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	245
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	246

Sequência	SEQ ID NO.
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	247
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	248
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	249
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	250
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	251
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	252
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	253
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	254
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	255
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	256
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	257
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	258
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	259
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	260
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	261
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-	262

Sequência	SEQ ID NO.
K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	263
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	264
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	265
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	266
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	267
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	268
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	269
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	270
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	271
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	272
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	273
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	274
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	275
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	276
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	277

Sequência	SEQ ID NO.
C	
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	278
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	279
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	280
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	281
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	282
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	283
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	284
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	285
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	286
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	287
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	288
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	289
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	290
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	291
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	292

Sequência	SEQ ID NO.
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	293
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	294
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	295
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	296
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	297
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	298
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	299
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	300
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	301
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	302
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	303
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	304
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	305
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-N-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q-C	306
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	307
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-	308

Sequência	SEQ ID NO.
K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	309
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	310
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	311
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	312
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	313
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	314
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	315
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-D-C	316
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	317
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	318
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	319
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	320
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	321
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	322
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	323

Sequência	SEQ ID NO.
C	
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	324
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	325
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-V-F-K-D-C	326
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	327
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	328
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	329
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	330
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	331
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	332
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	333
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	334
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	335
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	336
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	337
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	338

Sequência	SEQ ID NO.
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	339
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	340
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	341
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	342
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	343
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	344
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	345
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	346
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	347
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	348
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	349
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-G-G-G-G-G-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D-C	350

[0050] Em algumas modalidades, a população dos peptídeos isolados compreendem três ou mais peptídeos, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de C-K-D-G-T-X₆-V-E-X₉-K-A-X₁₂-K-F-X₁₅-W-N-X₁₈-P-D-X₂₁-R-I-X₂₄-F-K-X₂₇ (SEQ ID NO: 4), ou fragmento deste, em que X₆ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por K ou Q, X₉ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou V, X₁₂ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por D ou N, X₁₅ é um aminoácido selecionado do grupo

constituído por E ou Q, X₁₈ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por S ou Q, X₂₁ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por F ou W, X₂₄ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por I ou V, e X₂₇ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por Q ou D. Nas modalidades relacionadas, peptídeos da invenção compreendem uma sequência SEQ ID NO: 4, em que X₆ é Q, X₉ é F, e/ou X₁₂ é N. Em outras modalidades, peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 4, em que X₁₅ é E, X₁₈ é S, e/ou X₂₁ é W. Ainda em outra modalidade, peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 4, em que X₂₄ é I e/ou X₂₇ é D. Nas modalidades particulares, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos compreendendo ou consistindo de qualquer uma das sequências na Tabela 4.

Tabela 4. Peptídeos APL-ID2

Sequência	SEQ ID NO.
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	351
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	352
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	353
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-D-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	354
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	355
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-N-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	356
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-N-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	357
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-N-K-F-E-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	358
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	359
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	360
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	361
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	362
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	363
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	364
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	365
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-S-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	366
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	367
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	368
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	369
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	370
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	371
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	372
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	373
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-F-R-I-I-F-K-Q	374
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	375
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	376
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	377
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	378

Sequência	SEQ ID NO.
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	379
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	380
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	381
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-I-F-K-Q	382
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	383
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	384
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	385
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	386
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	387
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	388
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	389
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-Q	390
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	391
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	392
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	393
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-D-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	394
C-K-D-G-T-K-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	395
C-K-D-G-T-K-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	396
C-K-D-G-T-Q-V-E-F-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	397
C-K-D-G-T-Q-V-E-V-K-A-N-K-F-Q-W-N-Q-P-D-W-R-I-V-F-K-D	398

[0051] Em outra modalidade da invenção, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, onde cada peptídeo na população compreende uma sequência de C-X₂-G-G-K-S-P-A-R-X₁₀-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-X₂₃-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H (SEQ ID n: 5), ou um fragmento dos mesmos, em que X₂ é um aminoácido selecionado do grupo constituído por I ou V, X₁₀ é um aminoácido selecionado do grupo constituído de S, Y ou X₂₃ é um aminoácido selecionado do grupo constituído E ou N. Nas modalidades relacionadas, peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 5, onde X₂ é V. Em outras modalidades, peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 5, onde X₁₀ é Y. Em ainda outras modalidades, peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 5, onde X₂₃ é E. Em algumas modalidades, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos compreendendo ou consistindo de qualquer uma das sequências na Tabela 5.

Tabela 5. Peptídeos APL-ID3

Sequência	SEQ ID NO.
C-I-G-G-K-S-P-A-R-S-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-E-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H	399
C-I-G-G-K-S-P-A-R-Y-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-E-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-	400

Sequência	SEQ ID NO.
T-E-E-K-R-H	
C-V-G-G-K-S-P-A-R-S-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-E-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H	401
C-V-G-G-K-S-P-A-R-Y-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-E-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H	402
C-I-G-G-K-S-P-A-R-S-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-N-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H	403
C-I-G-G-K-S-P-A-R-Y-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-N-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H	404
C-V-G-G-K-S-P-A-R-S-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-N-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H	405
C-V-G-G-K-S-P-A-R-Y-T-E-E-R-V-A-G-D-L-D-H-K-N-V-D-S-D-K-K-H-D-A-E-K-T-E-E-K-R-H	406

[0052] Numa modalidade, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de C-G-K-I-L-N-L-V-S-A-V-Q-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H (SEQ ID NO: 6), ou um seu fragmento. As populações de peptídeos isolados podem compreender três ou mais peptídeos, cada um peptídeo compreendendo uma sequência de SEQ ID NO: 6 ou fragmentos desta sequência. Em algumas modalidades, os peptídeos compreendendo a sequência de SEQ ID NO: 6 podem ser incluídos noutras populações de peptídeos da invenção aqui descrita.

[0053] Numa outra modalidade da invenção, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de C-K-D-G-X₅-R-V-E-X₉-K-A-E-X₁₃-F-N-X₁₆-Q-X₁₈-P-N-P-X₂₂-I-K-Y-R-X₂₇ (SEQ ID NO: 7), ou um seu fragmento, em que X₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em S ou Q, X₉ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em F ou Y, X₁₃ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em R ou H, X₁₆ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em W ou Y, X₁₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em S ou Q, X₂₂ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em K ou H, e X₂₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em N ou D.

[0054] Nas modalidades relacionadas, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 7, em que X₅ é Q, X₉ é Y, e/ou X₁₃ é H. De acordo com outras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 7, em que X₁₆ é W e/ou X₂₂ é K. Em ainda outras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID

NO: 7, em que X_{18} é S e/ou X_{27} é D. Em algumas modalidades, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos que compreendem ou que consistem em qualquer uma das sequências na Tabela 6.

Tabela 6. Peptídeos APL-ID6

Sequência	SEQ ID NO.
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	407
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	408
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	409
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	410
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	411
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	412
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	413
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-W-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	414
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	415
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	416
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	417
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	418
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	419
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	420
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	421
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-S-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	422
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	423
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	424
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	425
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	426
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	427
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	428
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	429
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	430
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	431
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	432
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	433
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	434
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	435
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	436
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	437
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-K-I-K-Y-R-N	438
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	439
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	440
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	441
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	442
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	443
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	444
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	445
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	446
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	447

Sequência	SEQ ID NO.
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-N	448
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	449
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-W-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	450
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	451
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	452
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	453
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-R-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	454
C-K-D-G-S-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	455
C-K-D-G-S-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	456
C-K-D-G-Q-R-V-E-F-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	457
C-K-D-G-Q-R-V-E-Y-K-A-E-H-F-N-Y-Q-Q-P-N-P-H-I-K-Y-R-D	458

[0055] Em algumas modalidades da invenção, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de C-G-K-I-L-N-L-V-S-X₁₀-X₁₁-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H (SEQ ID NO: 8), ou um seu fragmento, em que X₁₀ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em V, L ou I, e X₁₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo consistindo de A ou L. Em tais modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 8, em que X₁₁ é A. Em outras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 8, em que X₁₀ é I. Em ainda outras modalidades, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos que compreendem ou que consistem em qualquer uma das sequências na Tabela 7.

Tabela 7. Peptídeos APL-ID7

Sequência	SEQ ID NO.
C-G-K-I-L-N-L-V-S-V-A-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H	459
C-G-K-I-L-N-L-V-S-V-L-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H	460
C-G-K-I-L-N-L-V-S-L-A-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H	461
C-G-K-I-L-N-L-V-S-L-L-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H	462
C-G-K-I-L-N-L-V-S-I-A-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H	463
C-G-K-I-L-N-L-V-S-I-L-N-E-K-K-P-P-E-A-P-A-A-D-E-A-A-G-P-A-T-H	464

[0056] Em outras modalidades da invenção, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de E-T-K-V-X₅-Y-X₇-Y-L-K-X₁₁-G-R-T-V-K-L-D-S-H-X₂₁-F-D-W-X₂₅-T-P-X₂₈-P-K-X₃₁-G-F-K-D-C (SEQ ID NO: 9), ou um seu fragmento, em que X₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em G, I ou H, X₁₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que

consiste de E, N, ou Q, X₂₁ é um aminoácido selecionado de entre o grupo consistindo de R, D, ou N, X₂₅ é um aminoácido selecionado de entre o grupo consistindo de Q, D, ou E, X₂₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em E ou N, e X₃₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em L ou V.

[0057] Nas modalidades relacionadas, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 9, em que X₅ é V, X₇ é G, e/ou X₁₁ é N. Em outras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 9, em que X₂₁ é R e/ou X₂₅ é E. Em ainda outras modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 9, em que X₂₈ é N e/ou X₃₁ é L. Em algumas modalidades, a população de peptídeos isolados compreende três ou mais peptídeos que compreendem ou que consistem em qualquer uma das sequências na Tabela 8.

Tabela 8. Peptídeos APID 2-1

Sequência	SEQ ID NO.
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	465
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	466
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	467
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	468
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	469
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-E-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	470
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	471
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	472
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	473
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	474
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	475
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-N-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	476
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-	477

Sequência	SEQ ID NO.
F-K-D-C	
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	478
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	479
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	480
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	481
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-R-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	482
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	483
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	484
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	485
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	486
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	487
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	488
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	489
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	490
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	491
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	492
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	493
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-Q-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	494
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	495
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	496
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	497
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	498
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	499
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-	500

Sequência	SEQ ID NO.
F-K-D-C	
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	501
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	502
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	503
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	504
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	505
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-D-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	506
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	507
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	508
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	509
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	510
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	511
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	512
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	513
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	514
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	515
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	516
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	517
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-E-P-K-L-G-F-K-D-C	518
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	519
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	520
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	521
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	522
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	523

Sequência	SEQ ID NO.
K-D-C	
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	524
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	525
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	526
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	527
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	528
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	529
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-L-G-F-K-D-C	530
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	531
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	532
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	533
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	534
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	535
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-D-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	536
E-T-K-V-V-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	537
E-T-K-V-V-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	538
E-T-K-V-V-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	539
E-T-K-V-A-Y-G-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	540
E-T-K-V-A-Y-I-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	541
E-T-K-V-A-Y-H-Y-L-K-Q-G-R-T-V-K-L-D-S-H-N-F-D-W-E-T-P-N-P-K-V-G-F-K-D-C	542

[0058] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9 e uma sequência adicional de peptídeo do terminal N (*por exemplo*, uma extensão do terminal N). A sequência do peptídeo de terminal N adicional pode

compreender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 ou mais aminoácidos. Em certas modalidades, a sequência peptídica do terminal N tem um comprimento de cerca de 5 a cerca de 10, cerca de 10 a cerca de 15, cerca de 15 a cerca de 20, cerca de 20 a cerca de 25, cerca de 25 a cerca de 30, cerca de 30 a cerca de 40, ou cerca de 40 a cerca de 50 aminoácidos. Numa modalidade, a sequência peptídica do terminal N pode ser um ou mais resíduos de ligação (*por exemplo*, um ou mais resíduos de glicina, cisteína ou serina). Por exemplo, em certas modalidades, o resíduo de cisteína do terminal carboxil em quaisquer uma das sequências aqui descritas pode estar localizada no terminal amino em vez disso. De um modo semelhante, o resíduo de cisteína do terminal amino, em qualquer das sequências aqui descritas podem estar localizadas no terminal carboxil em vez disso.

[0059] A sequência peptídica adicional do terminal N pode ser uma sequência nativa. Tal como aqui utilizado, uma sequência "nativa" é uma sequência peptídica de uma ocorrência natural *Anaplasma* principal da proteína de superfície 2 (MSP2)/p44 ou sequência OMP/P44, ou uma sua variante. Em certas modalidades, a sequência do peptídeo é um fragmento de ocorrência natural *Anaplasma* MSP 2/p44 ou sequência OMP/p44. A sequência peptídica pode ser, *por exemplo*, a partir de uma região conservada ou não conservada de MSP 2/p44 ou OMP/p44. A sequência do peptídeo pode compreender, *por exemplo*, um epítipo, tal como um epítipo imunodominante ou qualquer outro epítipo reconhecido por um sistema imunológico do hospedeiro (*por exemplo*, humano, cão, etc.). Proteínas *Anaplasma* MSP 2/p44 ou OMP/p44 e peptídeos dos mesmos têm sido descritos, *por exemplo*, na Adesão Genbank Nos. AAO30097.1, ACV85580.1, ACV85559.1, AEH96270.1, ADU56850.1, AEH96270.1, e AAQ91849.1, bem como nas Patentes US Nos. 7507789, 8303959, 8158370, e Patente dos US No. de publicação 2013/0064842, o conteúdo de cada um dos quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade.

[0060] Os polipeptídeos variantes são, pelo menos, cerca de 80, 85, 90, 95, 98, ou 99% idêntica a um peptídeo apresentado na SEQ ID NOs: 1-543 e são também polipeptídeos da invenção. Identidade de sequência percentual tem um significado reconhecido na técnica e existe uma série de métodos para medir a

identidade entre duas sequências polipeptídicas ou polinucleotídicas. *Veja, por exemplo*, Lesk, Ed., Computational Molecular Biology, Oxford University Press, New York, (1988); Smith, Ed., Biocomputing: Informatics And Genome Projects, Academic Press, New York, (1993); Griffin & Griffin, Eds., Computer Analysis Of Sequence Data, Part I, Humana Press, New Jersey, (1994); von Heinje, Sequence Analysis In Molecular Biology, Academic Press, (1987); e Gribskov & Devereux, Eds., Sequence Analysis Primer, M Stockton Press, Nova York, (1991). Os métodos para o alinhamento de polinucleotídeos ou polipeptídeos são codificados em programas de computador, incluindo o pacote de programas GCG (Devereux *et al.*, Nuc. Acids Res. 12:387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul *et al.*, J Molec. Biol. 215:403 (1990)), e programa Bestfit (Wisconsin Sequence Analysis Package, versão 8 para Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711), que utiliza o algoritmo de homologia local de Smith e Waterman (Adv. App. Math., 2:482-489 (1981)). Por exemplo, o programa de computador ALIGN que emprega algoritmo FASTA o pode ser usada, com uma pesquisa de penalidade de abertura de intervalo de -12 e uma penalidade de extensão de abertura de -2.

[0061] Quando se utiliza qualquer um dos programas de alinhamento de sequências para determinar se uma sequência em particular é, por exemplo, cerca de 95% idêntica a uma sequência de referência, os parâmetros são ajustados de tal modo que a porcentagem de identidade é calculada sobre o comprimento total do polinucleotídeo de referência e que lacunas na identidade de até 5% do número total de nucleotídeos no polinucleotídeo de referência são permitidos.

[0062] As variantes das sequências de peptídeos podem ser facilmente selecionadas por um versado na técnica, com base, em parte, propriedades conhecidas da sequência. Por exemplo, um peptídeo variante pode incluir substituições de aminoácidos (*por exemplo*, substituições conservadoras de aminoácidos) e/ou deleções (*por exemplo*, pequenas, deleções de um único aminoácido ou exclusões abrangendo 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 ou mais aminoácidos contíguos). Assim, em certas modalidades, uma variante de uma sequência nativa é um peptídeo que difere de uma sequência que ocorre naturalmente por (i) um ou mais (*por exemplo*, 2, 3, 4, 5, 6, ou mais) substituições de aminoácidos

conservadores, (ii) a exclusão de um ou mais (*por exemplo*, 2, 3, 4, 5, 6, ou mais) aminoácidos, ou (iii) uma combinação dos mesmos. Aminoácidos eliminados podem ser contíguos ou não contíguos. As substituições de aminoácidos conservativas são aquelas que ocorrem dentro de uma família de aminoácidos que estão relacionados nas suas cadeias laterais e propriedades químicas. Esses incluem, *por exemplo*, (1): aminoácidos ácidos: aspartato, glutamato; (2) os aminoácidos básicos: lisina, arginina, histidina; (3) os aminoácidos não polares: alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano; (4) polares não carregados aminoácidos: glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina; (5) os aminoácidos alifáticos: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, com serina e treonina facultativamente agrupados separadamente como alifático-hidroxil; (6) aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina, triptofano; (7) aminoácidos aminados: asparagina, glutamina; e (9) enxofre contendo aminoácidos: cisteína e metionina. *Veja-se, por exemplo*, Biochemistry, 2nd ed., Ed. by L. Stryer, W H Freeman and Co.: 1981. Os métodos para a confirmação de que os peptídeos variantes são adequados são convencionais e de rotina.

[0063] As variantes das sequências de peptídeos abrangem variações de sequências de peptídeos previamente definidos. Por exemplo, uma sequência de peptídeo anteriormente descrito, compreendendo um epítipo conhecido pode ser alongado ou encurtado, a uma ou ambas as extremidades (*por exemplo*, por cerca de 1-3 aminoácidos), e/ou um, dois, três, quatro ou mais aminoácidos podem ser substituídos por aminoácidos conservadores, etc. Além disso, se uma região de uma proteína tem sido identificada como contendo um epítipo de interesse, um investigador pode "deslocar" a região de interesse (*por exemplo*, por cerca de 5 aminoácidos em qualquer direção) a partir dos parâmetros da região áspera original para otimizar a atividade.

[0064] Em certas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal N pode compreender ou consistir de um outro peptídeo possuindo uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9. Assim, em algumas modalidades, um peptídeo da invenção pode ser um multímero de sequências com uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3,

SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9. Em outras modalidades, a sequência peptídica do terminal N é um MSP nativo 2/p44 ou sequência peptídica OMP/p44 que é naturalmente adjacente à extremidade do terminal N de uma sequência de qualquer uma de SEQ ID NOS: 1-9. Em outras modalidades, o peptídeo pode compreender uma fusão de sequências de qualquer uma das SEQ ID NOS: 1 a 9, opcionalmente, através de um ou mais aminoácidos de ligação. Por exemplo, numa modalidade, o peptídeo pode compreender uma sequência da SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2 ligada à SEQ ID NO: 4, opcionalmente, através de um ou mais aminoácidos de ligação (*por exemplo*, glicina, serina, ou de resíduos de cisteína). Numa outra modalidade, o peptídeo pode compreender uma sequência da SEQ ID NO: 5 ligada a SEQ ID NO: 4 ou SEQ ID NO: 6, opcionalmente através de um ou mais aminoácidos de ligação (*por exemplo* glicina, serina, ou de resíduos de cisteína). Numa outra modalidade, o peptídeo pode compreender uma sequência da SEQ ID NO: 9 ligada a SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 7, ou SEQ ID NO: 8 opcionalmente através de um ou mais aminoácidos de ligação (*por exemplo* glicina, serina, ou de resíduos de cisteína).

[0065] Em certas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal N está numa sequência não nativa. Tal como aqui utilizado, uma sequência "não nativa" é qualquer sequência de proteína, quer a partir de uma *Anaplasma* proteína ou de outra forma, que não seja um nativo MSP 2/p44 ou sequência de peptídeo OMP/p44. Em certas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal N compreende um epítipo de um *Anaplasma* antígeno de superfície. Outros *Anaplasma* antígenos incluem, mas não estão limitados a MSP5, HSP60, Asp14 (Kahlon *et al.*, Infect Immun., Vol. 81 (1): 65-79, 2013), e os antígenos descritos em Zhi *et al.*, J. Clin. Microbiol., Vol. 35(10): 2606-2611, 1997. Os polipeptídeos ou peptídeos derivados de outros micro-organismos, também podem ser usados, incluindo antígenos *Ehrlichia* e antígenos *Borrelia*. As sequências de proteínas e de peptídeos correspondentes aos antígenos *Ehrlichia* foram descritos. *Veja-se, por exemplo*, Pedido U.S. No. 14/052.296, Patentes U.S. Nos. 6306402, 6355777, 7204992, 7407770, 8828675, e documento WO2006/138509, o conteúdo de cada um dos quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade. As sequências de proteínas e de peptídeos

correspondentes aos antígenos *Borrelia* foram descritos. *Veja-se, por exemplo*, Patentes U.S. Nos. 6716574, 5618533, 5643733, 5643751, 5932220, 6617441, 7887815, 8568989, e 8758772, o conteúdo de cada um dos quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade.

[0066] Em certas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal N é uma combinação de sequências. Por exemplo, a sequência adicional do peptídeo do terminal N pode compreender uma sequência nativa, uma sequência não nativa, ou qualquer combinação de tais sequências (*por exemplo*, duas ou mais sequências nativas, duas ou mais sequências não nativas, ou uma ou mais sequências nativas em combinação com uma ou mais sequências não nativas).

[0067] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9 e uma sequência adicional do terminal C (*por exemplo*, uma extensão do terminal C). A sequência do peptídeo de terminal C adicional pode compreender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 ou mais aminoácidos. Em certas modalidades, a sequência adicional do terminal C tem um comprimento de cerca de 5 a cerca de 10, cerca de 10 a cerca de 15, cerca de 15 a cerca de 20, cerca de 20 a cerca de 25, cerca de 25 a cerca de 30, cerca de 30 a cerca de 40, ou cerca de 40 a cerca de 50 aminoácidos. A sequência peptídica adicional do terminal C pode ser uma sequência nativa MSP 2/p44 ou OMP/p44. Em certas modalidades, a sequência do peptídeo do terminal C é um fragmento de ocorrência natural de *Anaplasma* MSP 2/p44 ou sequência OMP/p44. A sequência peptídica pode ser, *por exemplo*, a partir de uma região conservada ou não conservada de MSP 2/p44 ou OMP/p44. A sequência do peptídeo pode compreender, *por exemplo*, um epítipo, tal como um epítipo imunodominante ou qualquer outro epítipo reconhecido por um sistema imunológico do hospedeiro (por exemplo, humano, cão, etc.).

[0068] Em certas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal C pode compreender ou consistir de um outro peptídeo possuindo uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9. Por

exemplo, em certas modalidades, um peptídeo da invenção pode ser um multímero de cada sequência com uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9. Em outras modalidades, a sequência nativa é uma sequência (*por exemplo*, uma sequência MSP 2/p44 ou OMP/p44) que é, naturalmente, adjacente à extremidade do terminal C de uma sequência da SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9.

[0069] Em certas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal C está numa sequência não nativa. Em algumas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal C compreende um epítipo de um antígeno de superfície de *Anaplasma* diferente do MSP 2/p44 ou OMP/p44. Os polipeptídeos ou peptídeos derivados de outros micro-organismos, também podem ser usados. Por exemplo, em algumas modalidades, a sequência peptídica de *Anaplasma* pode ainda compreender um epítipo a partir de um antígeno *Ehrlichia* ou *Borrelia*.

[0070] Em certas modalidades, a sequência adicional do peptídeo do terminal C é uma combinação de sequências. Por exemplo, a sequência adicional do peptídeo do terminal C pode compreender uma sequência nativa, uma não nativa, ou qualquer combinação de tais sequências (*por exemplo*, duas ou mais sequências nativas, duas ou mais sequências não nativas, ou uma ou mais sequências nativas em combinação com uma ou mais sequências não nativas).

[0071] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem uma sequência definida por SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9 e compreende ainda uma sequência de peptídeo do terminal N adicional e uma sequência de peptídeo do terminal C adicional. As sequências peptídicas adicionais do terminal N e terminal C podem ser, como descrito acima. Os peptídeos da invenção geralmente não consistem de um comprimento completo da proteína MSP 2/p44 ou OMP/p44. No entanto, em certas modalidades, os peptídeos da invenção podem compreender um comprimento completo da proteína de MSP-2/p44 ou OMP/p44. Em outras modalidades, os peptídeos da presente invenção não compreendem um comprimento completo de proteína de

MSP-2/p44 ou OMP/p44.

[0072] Um peptídeo da presente invenção que compreende uma sequência adicional de peptídeo do terminal N e/ou terminal C pode ser concebido para diagnosticar infecções por *Anaplasma* (*por exemplo* anaplasmoses) logo após a infecção (*por exemplo*, dentro de uma a duas semanas após o início da infecção). Por exemplo, em certas modalidades, a sequência adicional de peptídeo do terminal N e/ou terminal C compreende um antígeno ou epítipo associado com estágios precoces da infecção por *Anaplasma*.

[0073] Além das sequências descritas acima, as sequências dos terminais N e terminais C adicionais podem compreender ou consistir de uma sequência flexível, concebida para melhor apresentar os peptídeos da invenção para a detecção num imunoensaio (*por exemplo*, ensaio ELISA, imunoensaio de fluxo lateral, ensaio de aglutinação, etc.). Tais sequências são flexíveis e podem ser prontamente identificadas pelos versados na técnica.

[0074] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em 20 ou mais (*por exemplo*, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ou mais) resíduos de aminoácidos. Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em 30 ou mais (*por exemplo*, 31, 32, 33, 34, ou mais) resíduos de aminoácidos. Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em 35 ou mais (*por exemplo*, 36, 37, 38, 39, ou mais) resíduos de aminoácidos. Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em 40 ou mais (*por exemplo*, 41, 42, 43, 44, ou mais) resíduos de aminoácidos. Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em 45 ou mais (*por exemplo*, 46, 47, 48, 49, ou mais) resíduos de aminoácidos. Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em 50 ou mais (*por exemplo*, 51, 52, 53, 54, ou mais) resíduos de aminoácidos. Em certas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, ou mais resíduos de aminoácidos. Em algumas modalidades, os peptídeos da invenção compreendem ou consistem em cerca de 20 a cerca de 75 aminoácidos, de cerca de 25 a cerca de 65 aminoácidos, ou cerca de 30 a cerca de 55 aminoácidos.

[0075] Em certas modalidades, os peptídeos da presente invenção

compreendem um epítopo de uma sequência de peptídeo aqui descrito. Por exemplo, em certas modalidades, os peptídeos da presente invenção compreendem um epítopo de uma sequência selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 1-543.

[0076] Em algumas modalidades, os peptídeos da presente invenção compreendem um fragmento de uma sequência de peptídeo aqui descrito. Por exemplo, em certas modalidades, os peptídeos da presente invenção compreendem um fragmento de uma sequência selecionada a partir do grupo consistindo em SEQ ID NOs: 1-543. O fragmento pode ser, *por exemplo*, pelo menos, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 ou 44 aminoácidos de comprimento. O fragmento também pode ser pelo menos 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, ou 66 aminoácidos de comprimento. Em algumas modalidades, o fragmento não é mais do que 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, ou 66 aminoácidos de comprimento. O fragmento pode ser contíguo ou pode incluir uma ou mais deleções (*por exemplo*, uma deleção de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, ou mais resíduos de aminoácidos). Por exemplo, numa modalidade, os peptídeos da presente invenção compreendem um fragmento da SEQ ID NO: 3. Tais fragmentos podem compreender, pelo menos, 10, 15, 20, 25, 30, ou 35 aminoácidos contíguos de SEQ ID NO: 3. Em algumas modalidades, os fragmentos compreendem os aminoácidos 1 a 35 da SEQ ID NO: 3. Assim, numa modalidade, um peptídeo da invenção compreende ou é constituído por uma sequência de E-T-K-V-X₅-Y-X₇-Y-L-K-X₁₁-G-R-T-V-K-L-X₁₈-S-H-X₂₁-F-D-W-X₂₅-T-P-X₂₈-P-K-X₃₁-G-F-K-D (SEQ ID NO: 543), em que X₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em G, I ou H, X₁₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste de E, N, ou Q, X₁₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo constituído por D ou N, X₂₁ é um aminoácido selecionado de entre o grupo consistindo de R, D, ou N, X₂₅ é um aminoácido selecionado de entre o grupo consistindo de Q, D, ou E, X₂₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo consistindo de E ou N, e X₃₁ é um aminoácido

selecionado a partir do grupo consistindo de L ou V.

[0077] Os peptídeos da invenção que compreendem um fragmento de uma sequência de peptídeo aqui descrito podem ainda compreender uma sequência adicional do terminal N do peptídeo, um peptídeo adicional de sequência do terminal C, ou uma combinação dos mesmos. As sequências peptídicas adicionais do terminal N e terminal C podem ser, como descrito acima.

[0078] Os peptídeos da invenção que compreendem uma sequência adicional do peptídeo do terminal N ou terminal C pode ainda compreender um agente de ligação que liga o peptídeo (*por exemplo*, um peptídeo da SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9, ou um seu fragmento), com a sequência peptídica adicional do terminal N ou terminal C. O ligante pode ser, *por exemplo*, um peptídeo espaçador. Este espaçador pode consistir em, por exemplo, entre cerca de um e cinco (*por exemplo*, cerca de três) resíduos de aminoácidos, aminoácidos não carregados de um modo preferido, *por exemplo*, resíduos alifáticos tais como alanina ou glicina. Numa modalidade, o espaçador é um tripleto do espaçador de glicina. Numa outra modalidade, o espaçador é um tripleto do espaçador de alanina. Numa outra modalidade, o espaçador compreende cinco aminoácidos de glicina. Em ainda outra modalidade, o espaçador compreende tanto resíduos de alanina e glicina. Alternativamente, o ligante pode ser um ligante químico (*isto é*, não-peptídico).

[0079] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção são produzidos por química sintética (*isto é*, um "peptídeo sintético"). Em outras modalidades, os peptídeos da invenção são produzidos biologicamente (*isto é*, pela maquinaria celular, tal como um ribossoma, em sistemas de expressão de células ou *in vitro* sistemas de tradução). Em certas modalidades, os peptídeos da invenção são isolados. Tal como aqui utilizado, um peptídeo "isolado" é um peptídeo que tenha sido produzido sinteticamente ou biologicamente e, em seguida, purificado, pelo menos parcialmente, a partir de produtos químicos e/ou maquinaria celular utilizada para produzir o peptídeo. Em certas modalidades, um peptídeo isolado da invenção é substancialmente purificado. O termo "substancialmente purificado", como aqui utilizado, refere-se a uma molécula, tal como um peptídeo, que é substancialmente isento de material celular (proteínas, lipídeos,

carboidratos, ácidos nucleicos, etc.), meio de cultura, precursores químicos, produtos químicos utilizados na síntese do peptídeo, ou combinações dos mesmos. Um peptídeo que é substancialmente purificado tem menos do que cerca de 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 2%, 1% ou menos do material celular, meio de cultura, outros polipeptídeos, precursores químicos, e/ou produtos químicos utilizados na síntese do peptídeo. Assim, uma molécula substancialmente pura, tal como um peptídeo, pode ser pelo menos cerca de 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, ou 99%, em peso seco, a molécula de interesse. Um peptídeo isolado da invenção pode ser em água, um tampão, ou numa forma seca aguardando a reconstituição, *por exemplo*, como parte de um kit. Um peptídeo isolado da presente invenção pode estar na forma de um sal farmaceuticamente aceitável. Ácidos e bases adequados que são capazes de formar sais com os peptídeos da presente invenção são bem conhecidos dos versados na técnica, e incluem ácidos e bases inorgânicas e orgânicas.

[0080] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção são purificados por afinidade. Por exemplo, em certas modalidades, os peptídeos da invenção são purificados por meio da sua capacidade para se ligar a anticorpos anti-*Anaplasma* (*por exemplo*, anticorpos para MSP 2/p44 ou OMP/p44 proteínas e, opcionalmente, outros antígenos *Anaplasma*) por contato de tais anticorpos com os peptídeos da invenção de modo a que os complexos de peptídeo-anticorpo é capaz de formar, lavando os complexos de peptídeo-anticorpo para remover impurezas, e, em seguida, a eluição dos peptídeos a partir dos anticorpos. Os anticorpos podem ser, *por exemplo*, ligados a um suporte sólido. Métodos de purificação por afinidade, são bem conhecidos e de rotina para os versados na técnica.

[0081] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção são modificados. Os peptídeos da invenção podem ser modificados por uma variedade de técnicas, tais como por desnaturação pelo calor e/ou um detergente (*por exemplo*, SDS). Alternativamente, os peptídeos da invenção podem ser modificados por associação com um ou mais outros radicais. A associação pode ser covalente ou não covalente, e pode ser, *por exemplo*, através de um ligante aminoácido terminal, tal como lisina ou cisteína, um agente de acoplamento químico, ou de uma ligação peptídica. A porção adicional pode ser, *por exemplo*, um ligante, um

receptor do ligante, um parceiro de fusão, uma etiqueta detectável, uma enzima, ou um substrato que imobiliza o peptídeo.

[0082] Os peptídeos da invenção podem ser conjugados a um ligante, tal como biotina (*por exemplo*, através de uma cisteína ou um resíduo de lisina), uma molécula de lipídeo (*por exemplo*, através de um resíduo de cisteína), ou uma proteína carreadora (*por exemplo*, albumina do soro, imunoglobulinas de domínio Fc, hemocianina de lapa californiana (KLH) através de *por exemplo*, uma cisteína ou um resíduo lisina). Anexo ao ligantes, tal como biotina, pode ser útil para associar o peptídeo com receptores de ligantes, tais como avidina, estreptavidina, estreptavidina polimérica (*ver, por exemplo*, US 2010/0081125 e US 2010/0267166, ambas as quais são aqui incorporadas por referência), ou neutravidina. A avidina, a estreptavidina, a estreptavidina polimérica, ou neutravidina, por sua vez, pode ser ligada a uma porção de sinalização (*por exemplo*, uma enzima, tal como peroxidase de rábano (HRP) ou fosfatase alcalina (ALP) ou β -galactosidase (β -GAL) ou outra unidade que pode ser visualizada, tal como um nanomaterial metálico, tal como nanopartículas, nanoplaca, ou nanoshell (*por exemplo*, ouro coloidal), um grupo fluorescente, ou quantum dot) ou um substrato sólido (*por exemplo*, um Immobilon™ ou nitrocelulose ou membrana Porex®). Alternativamente, os peptídeos da invenção podem ser fundidos ou ligados a um receptor de ligação, tal como avidina, estreptavidina, estreptavidina polimérica, ou neutravidina, facilitando assim a associação dos peptídeos com o ligante correspondente, tais como biotina e qualquer porção (*por exemplo*, porção de sinalização) ou substrato sólido a ele ligado. Exemplos de outros pares ligante do receptor são bem conhecidos na técnica e podem ser utilizados de forma semelhante.

[0083] Os peptídeos da invenção podem ser fundidos com um parceiro de fusão (*por exemplo*, um peptídeo ou outro radical) que pode ser usado para melhorar a purificação, para aumentar a expressão do peptídeo numa célula hospedeira, para auxiliar na detecção, para estabilizar o peptídeo, etc. Exemplos de compostos adequados para parceiros de fusão incluem proteínas carreadoras (*por exemplo*, albumina sérica, imunoglobulinas de domínio Fc, KLH), enzimas (*por exemplo*, peroxidase de rábano (HRP), beta-galactosidase, glutathione-S-transferase, fosfatase alcalina), proteína de ligação a maltose (MBP) ou um

marcador de histidina, etc. A fusão pode ser conseguida por meio de, *por exemplo*, uma ligação peptídica. Por exemplo, os peptídeos da invenção e os parceiros de fusão podem ser proteínas de fusão e podem ser fundidos diretamente in-frame ou pode compreender um ligante peptídica, tal como discutido acima no contexto de sequências peptídicas adicionais dos terminais N e terminais C. Em certas modalidades, uma população de peptídeos da invenção pode ser ligada por um dendrímero, por exemplo, como uma estrutura em MAPS.

[0084] Além disso, os peptídeos da invenção podem ser modificados para incluir qualquer uma de uma variedade de grupos químicos conhecidos ou moléculas. Tais modificações incluem, mas não estão limitadas a glicosilação, acetilação, acilação, ADP-ribosilação, amidação, ligação covalente ao polietilenoglicol (*por exemplo*, PEGuilação), ligação covalente de flavina, ligação covalente de uma porção heme, ligação covalente de um nucleotídeo ou derivado de nucleotídeo, ligação covalente de um lipídeo ou derivado de lipídeo, ligação covalente de fosfatidilinositol, ligação cruzada, ciclização, formação de ligações dissulfeto, desmetilação, formação de ligações cruzadas covalentes, formação de cistina, formação de piroglutamato, formilação, carboxilação gama, glicosilação, formação de âncora GPI, hidroxilação, iodação, metilação, miristoilação, oxidação, processamento proteolítico, fosforilação, prenilação, racemização, selenoilação, sulfatação, ubiquitinação, modificações com ácidos graxos, adição de transferência mediada por RNA de aminoácidos a proteínas, como arginilação, etc. Os análogos de um aminoácido (incluindo aminoácidos não naturais) e peptídeos com ligações substituídas também estão incluídos. Os peptídeos da invenção que consistem em qualquer uma das sequências discutidas aqui pode ser modificada por qualquer uma das modificações discutidas. Tais peptídeos ainda "consistem em" aminoácidos.

[0085] Modificações como definido acima são bem conhecidas dos versados na técnica e foram descritas em grande detalhe na literatura científica. Várias modificações particularmente comuns, glicosilação, ligação de lipídeos, sulfatação, gama-carboxilação de resíduos ácido glutâmico, hidroxilação e ADP-ribosilação, por exemplo, são descritos em muitos textos básicos, tais como *Proteins-Structure and Molecular Properties*, 2nd ed., T. E. Creighton, W.H. Freeman and Company, New York (1993). Muitas revisões detalhadas estão

disponíveis sobre este assunto, como por Wold, F., *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York 1-12 (1983); Seifter *et al.* (1990) *Meth. Enzymol.* 182:626-646 and Rattan *et al.* (1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 663:48-62.

[0086] Em certas modalidades, os peptídeos da invenção são ligados ou imobilizados num substrato, tal como um suporte sólido ou semissólido. A ligação pode ser covalente ou não covalente, e pode ser facilitado por uma unidade associada com o peptídeo que permite a ligação covalente ou não-covalente, tal como uma porção que tem uma afinidade elevada para um componente ligado ao carreador, suporte ou superfície. Por exemplo, o peptídeo pode ser associado com um ligante, tal como biotina, e o componente associado à superfície pode ser um ligante do receptor correspondente, tal como avidina. Em algumas modalidades, o peptídeo pode ser associado com um parceiro de fusão, *por exemplo*, albumina de soro bovino (BSA), o que facilita a ligação do peptídeo a um substrato. Em outras modalidades, os peptídeos da invenção são ligados ou imobilizados num substrato através de uma nanocamada metálica. Numa modalidade, a nanocamada metálica é constituída por cádmio, zinco, mercúrio, ou um metal nobre, tal como ouro, prata, cobre e platina. O peptídeo ou população de peptídeos podem ser ligados ou imobilizados sobre o substrato, quer antes ou após a adição de uma amostra contendo o anticorpo durante um imunoensaio.

[0087] Em certas modalidades, o substrato é um grânulo ou uma pluralidade de grânulos, como uma partícula coloidal (*por exemplo*, uma nanopartícula coloidal feita de ouro, prata, platina, cobre, cádmio, compósitos de metal, outros metais leves, partículas da estrutura do núcleo por shell, ou nanoesferas ocas de ouro) ou outro tipo de partícula (*por exemplo*, um grânulo magnético ou uma partícula ou de nanopartículas compreendendo sílica, látex, poliestireno, policarbonato, poliacrilato, PVDF ou PMMA). Tais partículas podem compreender um marcador (*por exemplo*, um colorimétrico, quimioluminescente, quantum dot ou marcador fluorescente) e pode ser útil para visualizar a localização dos peptídeos durante imunoensaios. Em certas modalidades, uma cisteína terminal de um peptídeo da presente invenção é utilizado para ligar o peptídeo diretamente a um nanomaterial, metálico ou de nanoestrutura.

[0088] Os nanomateriais metálicos ou nanoestruturas usadas em algumas

modalidades da invenção pode ser feito de ouro, prata, platina, paládio, cobre, cádmio, compósitos de metal, ou outros metais macios. Em algumas modalidades, os nanomateriais metálicos ou nanoestruturas, incluindo as nanoestruturas do compósito, têm uma geometria selecionada a partir de nanopartículas esféricas, nanopartículas piramidais, nanopartículas hexagonais, nanoshells, nanoplacas, nanotubos, nanofios e suas combinações. Exemplos de nanoshells metálicos incluem esferas de ouro ocos, nanoshells de sílica revestidas de ouro, e shells de ouro revestidas com sílica. Nanoplacas têm dimensões laterais (por exemplo, comprimentos das extremidades) que são maiores do que a sua espessura. Nanoplacas incluem nanodiscos, nanopolígonos, nanohexágonos, nanocubos, nano-anéis, nanoestrelas e nanoprismas. Em algumas modalidades, as nanoestruturas metálicas têm outras formas ou formatos irregulares. Em certas modalidades, o tamanho e a formas das nanoestruturas metálicas não são uniformes - isto é, as nanoestruturas metálicas são uma mistura heterogênea de diferentes formatos e tamanhos de nanoestruturas.

[0089] Para nanopartículas esféricas, as gamas de diâmetros adequadas incluem desde cerca de 5 nm a cerca de 200 nm, de cerca de 10 nm a cerca de 100 nm, e de cerca de 20 nm a cerca de 60 nm. Para nanoplacas, comprimentos das arestas podem ser de cerca de 10 nm a cerca de 800 nm, de cerca de 20 nm a cerca de 500 nm, de cerca de 50 nm a cerca de 200 nm, de cerca de 30 nm a cerca de 100 nm, ou entre cerca de 10 nm a cerca de 300 nm. A espessura das nanoplacas podem variar de cerca de 1 a cerca de 100 nm, de cerca de 5 nm a cerca de 80 nm, de cerca de 10 nm a cerca de 50 nm, ou entre cerca de 5 nm a cerca de 20 nm.

[0090] Em algumas modalidades, as nanoplacas têm uma relação de aspecto maior do que dois. A relação de aspecto é a proporção entre o comprimento da aresta a da espessura. De preferência, as nanoplacas têm uma razão de aspecto de cerca de 2 a cerca de 25, desde cerca de 3 a cerca de 20, desde cerca de 5 a cerca de 10, desde cerca de 2 a cerca de 15, ou desde cerca de 10 a cerca de 30.

[0091] Em certas modalidades, o substrato é um dot blot ou um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral. Por exemplo, os

peptídeos podem ser ligados ou imobilizados sobre uma membrana porosa, tal como uma membrana de PVDF (*por exemplo*, uma membrana Immobilon™), uma membrana de nitrocelulose, a membrana de polietileno, uma membrana de nylon, ou um tipo similar de membrana.

[0092] Em certas modalidades, o substrato é um trajeto de escoamento num rotor de centrífuga ou analítico. Em outras modalidades, o substrato é um tubo ou uma cavidade, tal como uma cavidade de uma placa (*por exemplo*, uma placa de microtitulação) adequada para utilização num ensaio ELISA. Tais substratos podem compreender vidro, materiais à base de celulose, polímeros termoplásticos, tais como polietileno, polipropileno ou poliéster, estruturas sinterizadas compostas de materiais particulados (*por exemplo*, vidro ou vários polímeros termoplásticos), ou uma película de membrana fundida constituída por nitrocelulose, nylon, polissulfona, ou semelhantes. Um substrato pode ser sinterizado, partículas finas de polietileno, vulgarmente conhecidos como polietileno poroso, por exemplo, 0,2-15 micra de polietileno poroso de Chromex Corporation (Albuquerque, NM). Todos esses materiais de substrato podem ser utilizados em formas adequadas, tais como películas, folhas ou chapas, ou eles podem ser revestidos sobre ou colados ou laminados para se apropriarem de veículos inertes, tais como papel, vidro, películas de plástico, ou tecidos. Os métodos adequados para imobilização de peptídeos em fases sólidas incluem interações iônicas, hidrófobas, covalentes e afins.

[0093] Por conseguinte, num outro aspecto, a invenção proporciona dispositivos. Em certas modalidades, os dispositivos são úteis para a realização de um imunoensaio. Por exemplo, em certas modalidades, o dispositivo é um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral. Um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral exemplar compreendendo peptídeos da invenção é descrito no Exemplo 2. Em certas modalidades, o dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral compreende uma população de peptídeos, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, ou SEQ ID NO: 9. Em algumas modalidades, o dispositivo é uma lâmina constituída por uma pluralidade de grânulos ao qual está ligado um peptídeo ou uma população de peptídeos. Um exemplo de um tal dispositivo que compreende os peptídeos da invenção adequados para utilização, por exemplo,

num ensaio de imunofluorescência indireta é descrito no Exemplo 3. Em outras modalidades, o dispositivo é um rotor centrífugo ou analítico. Em outras modalidades, o dispositivo é um dot blot, slot blot, ou Western blot. Em outras modalidades, o dispositivo é um tubo ou uma cavidade, *por exemplo*, em uma placa adequada para um ensaio ELISA. Um dispositivo exemplar compreendendo peptídeos da invenção para utilização num ensaio de ELISA é descrito no Exemplo 1. Em ainda outras modalidades, o dispositivo é um sensor eletroquímico, um sensor óptico, ou um sensor opto-eletrônico.

[0094] Em certas modalidades, o dispositivo compreende um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção. Em outras modalidades, o dispositivo compreende uma mistura de diferentes peptídeos da invenção. Por exemplo, em certas modalidades, o dispositivo compreende dois, três, quatro, ou mais diferentes peptídeos da invenção. Em certas modalidades, o peptídeo ou cada peptídeo na população compreende uma sequência da SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 ou SEQ ID NO: 9 ou um fragmento deste. Em outras modalidades, o peptídeo ou a cada peptídeo na população compreende uma sequência da SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, ou um fragmento deste. Em certas modalidades, a população de peptídeos é ligada ou imobilizada sobre o dispositivo, opcionalmente através de uma nanocamada metálica. Os dispositivos podem ser utilizados para detectar a presença de anticorpos para *Anaplasma* antígenos de múltiplas espécies (*por exemplo*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*, e *A. marginale*) numa amostra simultaneamente. Numa modalidade, o dispositivo compreende uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3. Numa outra modalidade, o dispositivo compreende uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 4. Numa outra modalidade, o dispositivo compreende uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 1. Numa modalidade ainda, o dispositivo compreende uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada

peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 8. Em outras modalidades, o dispositivo compreende uma população de peptídeos isolados que compreendem três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO : 7 ou SEQ ID NO: 9.

[0095] Num outro aspecto, a invenção proporciona composições que compreendem um ou mais peptídeos da invenção. Por exemplo, em certas modalidades, a invenção proporciona uma composição compreendendo um peptídeo que compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3, ou populações dos mesmos. Em certas modalidades, a composição compreende uma população de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, ou mais peptídeos (*por exemplo*, todos os peptídeos possíveis definidos pela SEQ ID NO: 3). Assim, a presente invenção fornece uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3. Em certas modalidades, os peptídeos na população ou em mistura compreendem uma adição do terminal N e/ou terminal C, e/ou são modificados (*por exemplo*, por associação com um ou mais de outros radicais), tal como aqui descrito. Em certas modalidades, os peptídeos compreendem as mesmas adições no terminal N e/ou terminais C. Em outras modalidades, os peptídeos compreendem diferentes adições de terminal N e/ou terminal C.

[0096] Em algumas modalidades, a invenção proporciona uma composição compreendendo um peptídeo que compreende uma sequência de SEQ ID NO: 4, ou populações dos mesmos. Em certas modalidades, a composição compreende uma população de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, ou mais peptídeos (*por exemplo*, todos os peptídeos possíveis definidos pela SEQ ID NO: 4). Assim, a presente invenção fornece uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 4. Em certas modalidades, os peptídeos na população ou em mistura compreendem uma adição do terminal N e/ou terminal C, e/ou são modificados (*por exemplo*, por associação com um ou mais de outros radicais), tal como aqui descrito. Em certas modalidades, os peptídeos compreendem as

mesmas adições no terminal N e/ou terminais C. Em outras modalidades, os peptídeos compreendem diferentes adições de terminal N e/ou terminal C.

[0097] Em ainda outras modalidades, a invenção proporciona uma composição compreendendo um peptídeo que compreende uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO : 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 543, ou populações dos mesmos. Em certas modalidades, a composição compreende uma população de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, ou mais peptídeos (*por exemplo*, todos os peptídeos possíveis definidos pela SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 543). Assim, a invenção fornece uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 1. Em outra modalidade, a presente invenção fornece uma população de peptídeos isolados compreendendo três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 2. Em outras modalidades, a invenção fornece uma população de peptídeos isolados que compreendem três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 ou SEQ ID NO: 543. Os peptídeos na população ou em mistura podem compreender uma adição do terminal N e/ou terminal C, e/ou são modificados (*por exemplo*, por associação com um ou mais de outros radicais), tal como aqui descrito.

[0098] Em algumas modalidades, a composição compreende uma população de peptídeos isolados, a referida população que compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência, ou de um seu fragmento, da SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou 9.

[0099] Em algumas modalidades, a composição compreende pelo menos duas populações diferentes de peptídeos aqui descritos. Em certas modalidades, pelo menos uma das populações peptídicas é definida pela SEQ ID NO: 3 (isto é, que compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência, ou de um fragmento deste, de SEQ ID NO: 3).

[00100] Em certas modalidades, a composição compreende ainda uma segunda população de peptídeos isolados. Em algumas modalidades, a segunda população de peptídeo é definida por SEQ ID NO: 7. Em algumas outras modalidades, cada peptídeo na segunda população do peptídeo compreende a sequência, ou um seu fragmento, de SEQ ID NO: 6.

[00101] Em algumas modalidades, a composição compreende ainda uma terceira população de peptídeos isolados que é diferente das primeira e segunda populações de peptídeos. Em certas modalidades, cada peptídeo na terceira população de peptídeo compreende a sequência, ou um seu fragmento, de SEQ ID NO: 6.

[00102] Numa modalidade particular, a composição compreende três populações diferentes de peptídeos, a primeira população de peptídeos os quais são definidos pela SEQ ID NO: 3, uma segunda população de peptídeos, que é definido pela SEQ ID NO: 7, e uma terceira população de peptídeos em que cada peptídeo compreende a sequência, ou um fragmento deste, da SEQ ID NO: 6.

[00103] Em certas modalidades, as composições compreendem um ou mais peptídeos (ou uma ou mais populações de peptídeos) da invenção e um ou mais peptídeos, tais como um peptídeo ou antígeno de *Anaplasma*, um peptídeo ou antígeno a partir de uma ou mais espécies de *Ehrlichia*, e/ou um peptídeo ou antígeno a partir de uma ou mais espécies de *Borrelia*. O peptídeo ou antígeno de *Anaplasma* pode ser qualquer superfície de peptídeo ou antígeno de *Anaplasma*, ou de qualquer peptídeo ou antígeno aqui descrito. Por exemplo, em certas modalidades, as composições compreendem uma mistura de peptídeos, em que cada peptídeo tem uma sequência de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, ou SEQ ID NO: 7. Em outras modalidades, as composições compreendem uma mistura de peptídeos, em que cada peptídeo tem uma sequência de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, ou SEQ ID NO: 6.

[00104] Peptídeos de *Ehrlichia* adequados que podem ser misturados com os peptídeos de *Anaplasma* da invenção incluem qualquer superfície de peptídeo ou antígeno *Ehrlichia* incluindo, mas não se limitando a OMP-1, p38, p43, p120, p140, P153, P156, P200, gp19, gp36, gp47, gp 200, ou proteína HGE-3, ou qualquer fragmento ou epítopo deste. Outros peptídeos adequados de *Ehrlichia* incluem peptídeos descritos no Pedido U.S. No. 14 / 052.296 e na Patente U.S.

No. 8.828.675, o conteúdo de cada um dos quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade. Peptídeos adequados *Borrelia* que podem ser misturados com os peptídeos *Anaplasma* da invenção incluem qualquer superfície de peptídeo ou antígeno *Borrelia* incluindo, mas não limitados a OspA, OspB, DbpA, proteínas associadas a flagelos FlaA (p37) e FlaB (p41), a OspC (25 kd), BBK32, APM (p39), p21, p39, p66 ou proteína P83, ou qualquer fragmento ou epítipo deste. Outros peptídeos adequados *Borrelia* incluem peptídeos descritos nas Patentes U.S. Nos. 8.568.989 e 8.758.772, o conteúdo de cada um dos quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade. A combinação pode compreender um coquetel (uma mistura simples) dos peptídeos ou polipeptídeos individuais, que podem estar na forma de um peptídeo ou polipeptídeo de fusão (*por exemplo*, um peptídeo multimérico), ou os peptídeos podem ser ligados por um dendrímero (*por exemplo*, como uma estrutura num MAPS), opcionalmente através de um resíduo de ligação (*por exemplo* lisina ou resíduo de cisteína). Por exemplo, em certas modalidades, uma composição compreende um ou mais peptídeos da invenção (*por exemplo*, um peptídeo possuindo uma sequência de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 ou SEQ ID NO: 543) e um ou mais peptídeos antigênicos de *Ehrlichia* e/ou um ou mais peptídeos antigênicos de *Borrelia*.

[00105] Quando uma composição compreende múltiplos peptídeos ou populações de peptídeos, a relação entre os vários peptídeos ou populações de peptídeos pode ser variada de modo a adaptar o desempenho da composição, por exemplo, em termos de sensibilidade e de seletividade. Por exemplo, numa composição que compreende duas populações de peptídeos, a razão molar das duas populações de peptídeos pode variar entre 20: 1 a 1:20, por exemplo, 20: 1, 10: 1, 5: 1, 3: 1, 2 : 1, 1: 1, 1: 2, 1: 3, 1: 5, 1:10, ou 1:20. Ou, a porcentagem de proporção de peso pode variar entre 95: 5 a 5:95, por exemplo, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30: 70, 20:80, 10:90, ou 5:95. Em uma composição que compreende três ou mais populações de peptídeos, a porcentagem de moles ou o peso de cada população de peptídeos pode variar de 1% a 98% do total de moles ou o peso de todas as três populações de peptídeos, por exemplo, 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 33%, 40%, 50%, 60%,

70%, 80%, 90%, 95%, 98%, etc. Em uma determinada modalidade, a composição compreende três populações de peptídeos, APL-ID1 (definida por SEQ ID NO:3), APL-ID5.1 (cada peptídeo compreendendo a SEQ ID NO: 6), e APL -ID6 (definido pela SEQ ID NO: 7) em uma proporção em peso de 50:25:25. Numa outra modalidade, a composição compreende três populações de peptídeos, APL-ID1 (definida por SEQ ID NO: 3), APL-ID5.1 (cada peptídeo compreendendo a SEQ ID NO: 6), e APL -ID6 (definida por SEQ ID NO: 7), em que cada população de peptídeos constitui um terço da composição em peso.

[00106] Um peptídeo da invenção pode ser fundido no seu terminal N ou terminal C de outro peptídeo adequado. Duas ou mais cópias de um peptídeo da invenção podem ser unidas uma à outra, por si só ou em combinação com um ou mais peptídeos. As combinações de peptídeos ou polipeptídeos fundidos e não fundidos podem ser usadas. Numa modalidade, o(s) peptídeo(s) adicional(is) contém as células B e/ou epítomos de células T a partir de um peptídeo ou antígeno *Anaplasma*, um peptídeo ou um antígeno de uma espécie infecciosa de *Anaplasma*, ou um peptídeo ou antígeno de um agente causador da anaplasmoze.

[00107] Num outro aspecto, a invenção proporciona ácidos nucleicos que compreendem uma sequência que codifica um peptídeo da invenção. Os ácidos nucleicos da invenção contêm menos do que a totalidade de um genoma microbiano e pode ser simples ou de cadeia dupla. Um ácido nucleico pode ser RNA, DNA, cDNA, DNA genômico, RNA quimicamente sintetizado ou DNA ou suas combinações. Os ácidos nucleicos podem ser purificados livres de outros componentes, tais como proteínas, lipídios e outros polinucleotídeos. Por exemplo, os ácidos nucleicos podem ser de 50%, 75%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100% purificados. Os ácidos nucleicos da invenção codificam os peptídeos aqui descritos. Em certas modalidades, os ácidos nucleicos que codificam um peptídeo possuindo a sequência de SEQ ID Nos: 1-543, ou suas combinações. Os ácidos nucleicos da invenção podem compreender outras sequências de nucleotídeos, tais como sequências que codificam ligantes, sequências de sinal, sequências de paragem de transferência TMR, domínios transmembranares, ou ligantes úteis na purificação de proteínas, tais como glutathione-S-transferase, histidina tag, MBP tag e proteína A de estafilococos.

[00108] Os ácidos nucleicos da invenção podem ser isolados. Um ácido nucleico "isolado" é aquele que não é imediatamente contíguo com uma ou ambas as extremidades 5' e 3' que flanqueiam sequências genômicas com os quais está naturalmente associado. Um ácido nucleico isolado pode ser, *por exemplo*, uma molécula de DNA recombinante de qualquer comprimento, desde que as sequências de ácidos nucleicos encontrados naturalmente imediatamente flanqueando a molécula de DNA recombinante num genoma de ocorrência natural é removida ou ausente. Os ácidos nucleicos isolados também incluem moléculas de ácido nucleico de ocorrência não natural. Os ácidos nucleicos da invenção também podem compreender fragmentos que codificam peptídeos imunogênicos. Os ácidos nucleicos da invenção podem codificar polipeptídeos de comprimento completo, fragmentos peptídicos e peptídeos variantes ou de fusão.

[00109] Os ácidos nucleicos da invenção podem ser isolados, pelo menos em parte, a partir de sequências de ácidos nucleicos presentes em, por exemplo, uma amostra biológica, tal como sangue, soro, saliva ou tecidos de um indivíduo infectado. Os ácidos nucleicos também podem ser sintetizados no laboratório, por exemplo, utilizando um sintetizador automático. Um método de amplificação tal como PCR, pode ser utilizado para amplificar ácidos nucleicos, pelo menos em parte, a partir de qualquer DNA genômico ou cDNA que codifica os polipeptídeos.

[00110] Os ácidos nucleicos da invenção podem compreender sequências de codificação para polipeptídeos de ocorrência natural ou pode codificar sequências alteradas que não ocorrem na natureza. Se desejado, os ácidos nucleicos podem ser clonados em um vetor de expressão compreendendo elementos de controle de expressão, incluindo, por exemplo, origens de replicação, promotores, intensificadores, ou outros elementos reguladores que dirigem a expressão dos polinucleotídeos da invenção em células hospedeiras. Um vetor de expressão pode ser, por exemplo, um plasmídeo, tal como o pBR322, pUC, ou ColE1, ou um vetor de adenovírus, tal como um vetor de adenovírus tipo 2 ou vetor do tipo 5. Opcionalmente, outros vetores podem ser usados, incluindo, mas não se limitando a vírus Sindbis, vírus de símio 40, vetores de alfavírus, vetores de poxvírus, e citomegalovírus e vetores retrovirais, tais como o vírus do Sarcoma Murino, do vírus do tumor mamário, vírus da leucemia de murino de Moloney, e vírus do sarcoma de Rous. Minicromossomos tal como

MC e MC1, bacteriófagos, fagomídeos, cromossomos artificiais de levedura, cromossomos artificiais bacterianos, partículas de vírus, partículas semelhantes a vírus, cosmídeos (plasmídeos nas quais locais cos lambda fago foram inseridos) e replicons (elementos genéticos que são capazes de replicação sob o seu próprio controle de uma célula) também pode ser usado.

[00111] Os métodos para a preparação de polinucleotídeos operativamente ligados a uma sequência de controle da expressão e expressando-os numa célula hospedeira são bem conhecidos na técnica. *Veja, por exemplo*, Pat. U.S. No. 4.366.246. Um ácido nucleico da invenção está operativamente ligado quando é posicionado adjacente a ou perto de um ou mais elementos de controle da expressão, que dirige a transcrição e/ou tradução do polinucleotídeo.

[00112] Assim, por exemplo, um peptídeo da invenção pode ser produzido de forma recombinante seguindo técnicas convencionais de engenharia genética. Para produzir um peptídeo recombinante da invenção, um ácido nucleico que codifica o peptídeo é inserido num sistema de expressão adequado. Geralmente, uma molécula recombinante ou vetor é construído em que a sequência de polinucleotídeo que codifica o peptídeo selecionado é operacionalmente ligado a uma sequência de controle da expressão permitindo a expressão do peptídeo. Numerosos tipos de vetores de expressão adequados são conhecidos na técnica, incluindo, por exemplo, contendo vetores bacteriano, viral, levedura, fúngico, sistemas de expressão de mamíferos ou de insetos. Os métodos para obter e utilizar tais vetores de expressão são bem conhecidos. Para orientação nesta e em outras técnicas de biologia molecular utilizadas para as composições ou métodos da invenção, *ver, por exemplo*, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, edição atual, Cold Spring Harbor Laboratory, Nova York; Miller *et al.*, Genetic Engineering, 8:277-298 (Plenum Press, edição atual), Wu *et al.*, Methods in Gene Biotechnology (CRC Press, Nova York, N.Y., edição atual), Recombinant Gene Expression Protocols, in Methods in Molecular Biology, Vol. 62, (Tuan, ed., Humana Press, Totowa, N.J., edição atual), e Current Protocols in Molecular Biology, (Ausubel *et al.*, Eds.,) John Wiley & Sons, NY (edição atual), e referências citadas neles.

[00113] Por conseguinte, a invenção também proporciona vetores que

compreendem ácidos nucleicos da invenção, e células hospedeiras compreendendo tais vetores. Em certas modalidades, o vetor é um vetor de transporte. Em outras modalidades, o vetor é um vetor de expressão (*por exemplo*, um vetor de expressão bacteriano ou eucariótico). Em certas modalidades, a célula hospedeira é uma célula bacteriana. Em outras modalidades, a célula hospedeira é uma célula eucariótica.

[00114] As células hospedeiras ou linhas celulares adequadas para expressão dos ácidos ou vetores da invenção nucleicos recombinantes incluem células bacterianas. Por exemplo, as várias cepas de *E. coli* (*por exemplo*, HB101, MC1061) são bem conhecidas como células hospedeiras no campo da biotecnologia. Várias cepas de *B. subtilis*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, e outros bacilos e semelhantes podem também ser empregues para expressar os ácidos nucleicos ou vetores da invenção. Alternativamente, um peptídeo da invenção pode ser expresso em levedura, do inseto, de mamífero, ou outros tipos de células, utilizando procedimentos convencionais. Sínteses livre de células *in vitro* e/ou mecanismos de síntese mediada por enzimas também podem ser utilizadas.

[00115] A presente invenção também fornece um método para produzir um peptídeo ou polipeptídeo recombinante, que envolve a transfecção ou transformação, *por exemplo*, por meios convencionais, tais como eletroporação, uma célula hospedeira com o vetor, pelo menos, uma expressão contendo um polinucleotídeo da invenção sob o controle de uma sequência de controle de expressão (*por exemplo*, uma sequência reguladora da transcrição). A célula hospedeira transfectada ou transformada é então cultivada em condições que permitem a expressão do peptídeo ou polipeptídeo. O peptídeo ou polipeptídeo expresso é recuperado, isolado e, opcionalmente, purificado a partir da célula (ou a partir do meio de cultura, se expressa extracelularmente) por meios adequados conhecidos de um versado na técnica, incluindo cromatografia líquida, tal como de fase normal ou reversa, usando HPLC, FPLC e semelhantes, cromatografia de afinidade, tal como com ligantes ou anticorpos monoclonais inorgânicos, cromatografia de exclusão de tamanho, cromatografia de quelato de metal imobilizado, eletroforese em gel, e semelhantes. Um versado na técnica pode selecionar as técnicas de isolamento e de purificação mais adequadas sem se afastar do âmbito da presente invenção. Um versado na técnica pode determinar

a pureza do peptídeo ou polipeptídeo utilizando métodos padrão incluindo, *por exemplo*, eletroforese em gel de poliacrilamida (*por exemplo*, SDS-PAGE), eletroforese capilar, cromatografia em coluna (*por exemplo*, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)), análise de aminoácidos amino-terminal e análise de aminoácidos quantitativa.

Métodos

[00116] Num outro aspecto, a invenção proporciona métodos de detecção numa amostra de um anticorpo para um epítopo de um antígeno *Anaplasma*. Numa modalidade, o método compreende o contato de uma amostra com um peptídeo da invenção, e detecta a formação de um complexo anticorpo-peptídeo compreendendo o referido peptídeo, em que a formação do referido complexo é indicativa da presença de um anticorpo para um epítopo de um antígeno *Anaplasma* na referida amostra. Em algumas modalidades, o antígeno *Anaplasma* é de uma espécie infecciosa *Anaplasma*, como o *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, ou *Anaplasma marginale*. Outras espécies de *Anaplasma* que têm sido implicadas na anaplasmoze também pode ser detectada utilizando os métodos da invenção, desde que induzem anticorpos que podem reagir especificamente com um peptídeo da invenção. Assim, é para ser entendido que o termo "patogênico *Anaplasma*, " tal como aqui utilizado, refere-se a quaisquer tais espécies *Anaplasma* que provocam anaplasmoze num ser humano ou um animal. Em modalidades particulares, os métodos permitem a detecção de anticorpos para antígenos *Anaplasma* de várias espécies em uma amostra simultaneamente.

[00117] Em certas modalidades, o método para detectar numa amostra de um anticorpo para um epítopo de um antígeno de *Anaplasma* compreende o contato da amostra com uma população de duas, três, quatro, ou mais (*por exemplo*, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, ou mais) diferentes peptídeos da invenção, e detectando a formação de um complexo compreendendo anticorpo-peptídeo que os referidos um ou mais peptídeos na população, em que a formação do referido complexo é indicativo de um anticorpo para um epítopo de um antígeno de *Anaplasma* estar presente na referida amostra. Por exemplo, numa modalidade particular, o método compreende o contato da amostra com uma população de dois ou mais

diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3. Numa outra modalidade particular, o método compreende o contato da amostra com uma população de dois ou mais diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 4. Numa outra modalidade ainda, o método compreende o contato da amostra com uma população de dois ou mais diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 1. Em algumas modalidades, o método compreende o contato da amostra com uma população de dois ou mais diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO : 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, ou SEQ ID NO: 543. Em certas modalidades, o método compreende o contato da amostra com uma mistura de um ou mais peptídeos da invenção e um ou mais outros peptídeos (*por exemplo*, um peptídeo de *Ehrlichia*, ou fragmento ou epítopo antigênico e/ou um peptídeo de *Borrelia* ou fragmento antigênico ou epítopo do mesmo).

[00118] Em certas modalidades, o peptídeo ou cada peptídeo na população é um peptídeo isolado (*por exemplo*, sintético e/ou purificado). Em algumas modalidades, o peptídeo ou a população de peptídeos está ligado ou imobilizado sobre um suporte sólido. Em tais modalidades, o suporte sólido é um grânulo ou uma pluralidade de grânulos (*por exemplo*, um nanomaterial metálico, tal como nanopartículas, nanoplaca, ou nanoshell, uma nanopartícula, um grânulo de látex, etc), um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral (*por exemplo*, uma membrana porosa), um trajeto de escoamento num rotor analítico ou centrífugo, um blot (Western blot, dot blot, ou slot blot), um tubo ou uma cavidade (*por exemplo*, em uma placa adequada para um ensaio ELISA), ou um sensor (*por exemplo*, um sensor eletroquímico, óptico, ou opto-eletrônico). Em algumas modalidades, o peptídeo ou a população de peptídeos está ligado ou imobilizado sobre um suporte sólido através de uma nanocamada metálica que, em algumas modalidades, pode ser constituída por cádmio, zinco, mercúrio, ou um metal nobre (*por exemplo*, ouro, prata, cobre e platina). Em algumas modalidades, os peptídeos ou as populações de peptídeos da invenção são imobilizados sobre uma nanocamada do compósito (*por exemplo*, compreendendo prata e ouro) ou nanocamadas de prata revestidos a ouro.

[00119] Há um número de diferentes ensaios convencionais para detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo que compreende um peptídeo da presente invenção. Por exemplo, em algumas modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um ensaio ELISA ou imunofluorescência. Em outras modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um imunoensaio de fluxo lateral. Em outras modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um ensaio de aglutinação (*por exemplo*, hemaglutinação ou um ensaio de aglutinação de partículas/grânulo). Em outras modalidades ainda, a etapa de detecção compreende a fiação da amostra num rotor de centrífuga ou analítica. Em algumas modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um Western blot, slot blot ou dot blot. Em certas modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um teste de desvio de comprimento de onda. Tais ensaios de desvio de comprimento de onda podem implicar a medição ou a determinação de uma alteração da ressonância plasmônica de superfície ou localizada no comprimento de onda de ressonância de plasma de superfície resultante da ligação dos anticorpos aos peptídeos ligados a nanocamadas metálicas ou nanopartículas/nanoshell/nanoplaças metálicas. Em outras modalidades, a etapa de detecção compreende a realização de um teste de imunofluorescência indireta. Em algumas modalidades, o teste do Anticorpo de Imunofluorescência Indireta compreende amostras reagem suspeitas de conter anticorpos contra antígenos *Anaplasma* com os grânulos (*por exemplo*, grânulos de látex) revestidos com os peptídeos da invenção, que são mais imobilizadas sobre uma lâmina de vidro, e subsequentemente fazendo reagir o diapositivo com anticorpos IgG marcado por fluorescência anti-cachorro ou IgM anti-ligado para detectar anticorpos *Anaplasma*. Um exemplo de um teste do anticorpo de imunofluorescência indireta é descrito no Exemplo 3. Em ainda outras modalidades, a etapa de detecção compreende analisar a amostra com um sensor eletroquímico, óptico, ou sensor ou opto-eletrônico. Estes diferentes ensaios são aqui descritos e/ou são bem conhecidos dos versados na técnica.

[00120] Numa modalidade, o método envolve a detecção da presença de anticorpos que ocorrem naturalmente contra um ou mais antígenos de *Anaplasma* (*por exemplo*, antígeno de uma *Anaplasma* patogênica, tal como *A. phagocytophilum*, *A. platys*, ou *A. marginale*) que são produzidos pelo sistema

imunológico do indivíduo infectado, nos seus fluidos biológicos ou tecidos, e que são capazes de se ligar especificamente a um peptídeo da invenção ou combinações de um peptídeo da invenção e, opcionalmente, um ou mais adequados polipeptídeos antigénicos adicionais ou peptídeos.

[00121] Métodos de imunoensaio adequados geralmente incluem: recebimento ou obtenção (*por exemplo*, a partir de um paciente) uma amostra de fluido corporal ou tecido susceptível de conter anticorpos; contactando (*por exemplo*, incubando ou reagindo) uma amostra a ser ensaiada com um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção, sob condições eficazes para a formação de um complexo peptídeo-anticorpo específico (*por exemplo*, pela ligação específica do peptídeo ao anticorpo); e ensaiar a amostra contactada (reagido) quanto à presença de uma reação anticorpo-peptídeo (*por exemplo*, determinação da quantidade de um complexo anticorpo-peptídeo). A presença de uma elevada quantidade do complexo anticorpo-peptídeo indica que o sujeito foi exposto a e infectadas com uma doença de espécie infecciosa de *Anaplasma*. Um peptídeo, incluindo uma forma modificada deste, que "se liga especificamente" a (*por exemplo*, é específico para" ou se liga "preferencialmente" a) um anticorpo contra um antígeno *Anaplasma* interage com o anticorpo, ou forma ou sofre uma associação física com que, numa quantidade e durante um tempo suficiente para permitir a detecção do anticorpo. Por "especificamente" ou "preferencialmente," entende-se que o peptídeo tem uma afinidade mais elevada (*por exemplo*, um grau mais elevado de seletividade) para tal um anticorpo do que para outros anticorpos numa amostra. Por exemplo, o peptídeo pode ter uma afinidade para o anticorpo de pelo menos cerca de 1,5 vezes, 2 vezes, 2,5 vezes, 3 vezes ou superior do que para outros anticorpos presentes na amostra. Tal afinidade ou grau de especificidade pode ser determinada por uma variedade de procedimentos de rotina, incluindo, *por exemplo*, estudos de ligação competitiva. Num ensaio de ELISA, uma resposta positiva é definida como um valor de 2 ou 3 desvios padrão maior do que o valor médio de um grupo de controlos saudáveis. Em algumas modalidades, uma segunda camada de ensaio é necessária para fornecer um diagnóstico sorológico inequívoco da anaplasmosse.

[00122] Frases como "amostra contendo um anticorpo" ou "detecção de um anticorpo numa amostra de" não pretendem a excluir amostras ou

determinações (*por exemplo*, tentativas de detecção), onde nenhum anticorpo está contido ou detectado. De um modo geral, a presente invenção envolve a ensaios para determinar se um anticorpo produzido em resposta a infecção com uma espécie infecciosa de *Anaplasma* está presente numa amostra, independentemente de serem ou não detectadas.

[00123] Condições da reação de peptídeos e anticorpos de modo a que eles reagem especificamente são bem conhecidos dos versados na técnica. *Veja-se, por exemplo*, Current Protocols in Immunology (Coligan *et al.*, editores, John Wiley & Sons, Inc).

[00124] Os métodos da invenção compreendem a recepção ou a obtenção de uma amostra de fluido corporal ou tecido susceptível de conter anticorpos a partir de um sujeito. Os anticorpos podem ser, *por exemplo*, do tipo IgG, IgE, IgD, IgM ou IgA. Geralmente, os anticorpos IgM e/ou IgA são detectados, *por exemplo*, para a detecção em fases iniciais da infecção. Anticorpos IgG podem ser detectados quando alguns dos peptídeos adicionais discutidos acima são utilizados no método (*por exemplo*, peptídeos para a detecção de proteínas flagelo). A amostra é preferivelmente de fácil obtenção e pode ser sangue completo, plasma ou soro derivado a partir de uma amostra de sangue venoso, ou mesmo a partir de uma picada no dedo. Tecido de outras partes do corpo ou outros fluidos corporais, tal como o fluido cerebro-espinal (CSF), saliva, secreções gástricas, muco, urina, etc, são conhecidos por conterem anticorpos e podem ser usados como uma fonte da amostra. A amostra pode também ser um extrato de tecido ou de um lisado celular.

[00125] Uma vez o peptídeo ou a população de peptídeos da invenção e a amostra do anticorpo são permitidas a reagir num meio adequado, um ensaio é realizado para determinar a presença ou ausência de uma reação do anticorpo-peptídeo. Entre os muitos tipos de ensaios adequados, os quais serão evidentes para um versado na técnica, são ensaios de imunoprecipitação e aglutinação.

[00126] Em certas modalidades da invenção, o ensaio compreende: a imobilização do anticorpo (s) na amostra; a adição de um peptídeo ou população de peptídeos da invenção; e detecção do grau de anticorpo ligado ao peptídeo ou peptídeos, *por exemplo*, pelo peptídeo ser marcado ou pela adição de uma substância marcada, tal como um parceiro de ligação marcado (*por exemplo*,

estreptavidina-HRP ou complexo de ouro coloidal de estreptavidina) ou um anticorpo marcado o qual reconhece especificamente o peptídeo ou peptídeos. *Veja-se, por exemplo*, Figura 2. Em outras modalidades, o ensaio compreende: a imobilização de um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção; adição da amostra contendo anticorpos; e a detecção da quantidade de anticorpo ligado ao peptídeo ou peptídeos, *por exemplo*, pela adição de um outro peptídeo ou a população de peptídeos da invenção conjugados, direta ou indiretamente, a um marcador (*por exemplo*, nanomaterial metálico, como nanopartículas, nanoplaca ou nanoshell, etiqueta fluorescente, enzima (*por exemplo*, peroxidase de rábano ou fosfatase alcalina)) ou pela adição de uma substância marcada, tal como um parceiro de ligação ou um anticorpo marcado que reconhece especificamente os anticorpos de amostra (*por exemplo*, anticorpos IgG de anti-humano, os anticorpos IgM de anti-humano, anticorpos IgG de anti-cachorro, os anticorpos IgM de anti-cachorro, anticorpos IgG de anti-gato, anticorpos IgM de anti-gato, proteína A, proteína G, proteínas de fusão de proteína A/G, proteína L, ou combinações dos mesmos, etc). *Veja-se, por exemplo*, Figuras 1, 3, e 4.

[00127] Em outras modalidades, o ensaio compreende: a imobilização de um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção; adição da amostra contendo anticorpos; e a detecção da quantidade de anticorpo ligado ao peptídeo ou peptídeos, *por exemplo*, adicionando um parceiro de primeira ligação que reconhece especificamente os anticorpos da amostra (*por exemplo*, anticorpos IgG de anti-humano, anticorpos IgM de anti-humano, anticorpos IgG de anti-cão, anticorpos IgM de anti-cão, anticorpos IgG de anti-gato, anticorpos IgM de anti-gato, proteína A, proteína G, proteínas de fusão de proteína A/G, proteína L, etc.), e adicionando ainda um segundo parceiro de ligação (*por exemplo*, Proteína A, proteína G, proteínas de fusão de proteína A/G, proteína G, etc.), em que o segundo parceiro de ligação é marcado e reconhece o referido primeiro parceiro de ligação. Em ainda outras modalidades, o ensaio compreende: fazer reagir o peptídeo ou a população de peptídeos e a amostra que contém anticorpos, sem qualquer um dos reagentes a ser imobilizado, e, em seguida, a detecção da quantidade de complexos de anticorpo e o peptídeo ou peptídeos, *por exemplo*, pelo peptídeo a ser marcado ou pela adição de uma substância marcada, tal como um parceiro de ligação marcada (*por exemplo*, estreptavidina-HRP ou

complexo de ouro coloidal de estreptavidina) ou um anticorpo marcado o qual reconhece especificamente o peptídeo.

[00128] A imobilização de um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção podem ser quer covalente ou não covalente, e a imobilização não covalente pode ser não específica (*por exemplo*, ligação não-específica a uma superfície de poliestireno em, *por exemplo*, uma cavidade de microtitulação). Ligação específica ou semi-específica a um carreador sólido ou semissólido, suporte ou superfície pode ser conseguido pelo peptídeo tendo associado a ele, uma porção que permite a sua ligação covalente ou não-covalente da ligação ao veículo sólido ou semissólido, suporte ou superfície. Por exemplo, a unidade pode ter afinidade com um componente ligado ao carreador, suporte ou superfície. Neste caso, o radical pode ser, *por exemplo*, um grupo biotina ou biotinil ou um seu análogo ligado a um grupo aminoácido do peptídeo, tal como o ácido 6-amino-hexanoico, e o componente é, em seguida, avidina, estreptavidina, neutravidina, ou um análogo deste. Uma alternativa é uma situação em que a porção é um marcador de histidina (*por exemplo* seis aminoácidos de histidina consecutivos) e o carreador compreende um ácido nitrilotriacético (NTA) derivado carregado com Ni^{++} ou íons Co^{++} . Em certas modalidades, a porção é um parceiro de fusão, *por exemplo*, BSA. Em modalidades exemplificativas, os peptídeos da invenção podem ser conjugados com BSA através de resíduos de N-terminal e/ou C-terminal dos peptídeos. Numa modalidade, um, dois, três, quatro, cinco, 10, 15, 20, 25, 30 ou mais peptídeos da invenção podem ser substituídos em, *por exemplo*, conjugado com BSA. Como seria entendido por aqueles versados na técnica, os níveis de substituição podem influenciar a sensibilidade do ensaio. Concentrações mais baixas de BSA altamente substituído são necessárias para atingir a sensibilidade oferecida por altas concentrações de BSA-peptídeo contendo menos moléculas de peptídeo. Em certas outras modalidades, o parceiro de fusão pode ser MAPS. Em certas modalidades exemplares, MAPS pode consistir de 4, 8 ou mais ramificações assimétricas.

[00129] Os carreadores, suportes e superfícies adequados incluem, mas não estão limitados a nanocamadas metálicas, grânulos (*por exemplo*, grânulos magnéticos, partículas coloidais ou nanomateriais metálicos, tais como as

nanopartículas metálicas, nanoplaças ou nanoshell, tais como ouro coloidal ou partículas ou nanopartículas que compreendem sílica, látex, poliestireno, polycarbonato ou PDVF), látex ou copolímeros, tais como estireno-divinil benzeno, estireno-divinil benzeno hidroxilado, poliestireno, poliestireno carboxilado, grânulos de negro de fumo, vidro ativado de cloreto de polivinil ou poliestireno ou não ativado, vidro magnético poroso ativado com epóxi, partículas de gelatina ou polissacarídeos ou outras partículas de proteínas, células vermelhas do sangue, anticorpos mono- ou policlonais ou fragmentos Fab de tais anticorpos.

[00130] Os protocolos para os imunoenaios que utilizam os antígenos para a detecção de anticorpos específicos são bem conhecidos na técnica. Por exemplo, um ensaio em sanduíche convencional pode ser utilizado ou um formato de ensaio competitivo convencional pode ser utilizado. Para uma discussão de alguns tipos adequados de ensaios, ver *Current Protocols in Immunology (supra)*. Em certas modalidades, um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção é imobilizado sobre uma superfície ou carreador sólido ou semissólido por meio de ligação covalente ou não-covalente, quer antes ou após a adição da amostra contendo o anticorpo.

[00131] Dispositivos para a realização de ensaios de ligação específica, em especial imunoenaios, são conhecidos e podem ser prontamente adaptados para utilização nos presentes métodos. Ensaios de fase sólida, em geral, são mais fáceis de executar do que os métodos de ensaio heterogêneos que exigem um passo de separação, tais como a precipitação, centrifugação, filtração, cromatografia ou magnetismo, porque a separação dos reagentes é mais rápida e mais simples. Dispositivos de ensaio em fase sólida incluem placas de microtitulação, dispositivos de ensaio flow-through (*por exemplo*, dispositivos de imunoensaio de fluxo lateral), dipsticks e dispositivos de imunoensaio imunocapilares ou imunocromatográficos.

[00132] Em modalidades da invenção, a superfície sólida ou semissólida ou carreador é o chão ou parede em uma cavidade de microtitulação, uma superfície de filtro ou membrana (*por exemplo*, uma membrana de nitrocelulose ou uma membrana de PVDF (fluoreto de polivinilideno), tal como uma membrana Immobilon™), membrana de polietileno tal como a membrana Porex®, uma fibra oca, um meio cromatográfico frizado (*por exemplo*, um gel de agarose ou de

poliacrilamida), um grânulo magnético, uma matriz de celulose fibrosa, uma matriz de HPLC, uma matriz de FPLC, uma substância com moléculas de um tamanho tal que as moléculas com o peptídeo se ligadas ali, quando dissolvidas ou dispersas numa fase líquida, podem ser retidas por meio de um filtro, uma substância capaz de formar micelas ou que participa na formação de micelas, permitindo uma fase de líquido ser alterada ou trocada sem arrastar as micelas, um polímero solúvel em água ou qualquer outro carreador adequado, apoio ou superfície.

[00133] Em algumas modalidades da invenção, o peptídeo é fornecido com (*por exemplo*, conjugado a) um marcador adequado que permite a detecção. Marcadores convencionais podem ser utilizados, que são capazes, por si só ou em combinação com outras composições ou compostos, de proporcionar um sinal detectável. Os marcadores adequados incluem, mas não estão limitados a enzimas (*por exemplo*, HRP, beta-galactosidase, fosfatase alcalina etc.), marcadores fluorescentes, quantum dots, marcadores radioativos, partículas de látex coloridas e marcadores de metal-conjugado (*por exemplo*, nanocamadas metálicas, marcadores de nanomaterial-conjugado metálicos). Nanomateriais metálicos adequados incluem, mas não estão limitados a nanopartículas metálicas, nanoplaquetas metálicas, bem como nanoshell metálicas. Marcadores de nanomaterial metálicos adequados incluem, mas não estão limitados a partículas de ouro ou nanoplaquetas, partículas de prata ou nanoplaquetas, partículas de cobre ou nanoplaquetas, partículas de platina ou nanoplaquetas, partículas de paládio ou nanoplaquetas, partículas de cádmio ou nanoplaquetas, partículas compostas ou nanoplaquetas, esferas ocas de ouro, nanoshell de sílica revestidas de ouro e conchas de ouro revestidas com sílica. Nanocamadas metálicas apropriadas para camadas detectáveis incluem nanocamadas compostas de cádmio, zinco, mercúrio, e metais nobres, tais como ouro, prata, cobre e platina. Em algumas modalidades, as nanocamadas metálicas compreendem compostos de ouro-prata ou nanocamadas de prata revestidas com ouro.

[00134] Métodos de detecção adequados incluem, *por exemplo*, a detecção de um agente que está marcado, direta ou indiretamente, com um ensaio colorimétrico (*por exemplo*, para a detecção de atividade de HRP ou beta-galactosidase), a inspeção visual utilizando microscopia de luz, microscopia de

imunofluorescência, incluindo microscopia confocal ou por citometria de fluxo (FACS), autorradiografia (*por exemplo*, para detecção de um agente marcado radioativamente), microscopia electrónica, a imunocoloração, fraccionamento subcelular ou semelhantes. Numa modalidade, um elemento radioativo (*por exemplo*, um aminoácido radioativo) é incorporado diretamente a uma cadeia peptídica; noutra modalidade, um marcador fluorescente está associado a um peptídeo através de interação biotina/avidina, associação com um anticorpo conjugado com fluoresceína ou semelhantes. Numa modalidade, um parceiro de ligação específico para o anticorpo detectável é adicionado à mistura. Por exemplo, o parceiro de ligação pode ser um anticorpo secundário detectável ou outro agente de ligação (*por exemplo*, proteína A, proteína G, proteína L ou suas combinações) que se liga ao primeiro anticorpo. Este anticorpo secundário ou outro agente de ligação pode ser marcado, *por exemplo*, com um nanomaterial radioativo, enzimático, fluorescente, quantum dots, luminescente, metálico, tal como nanopartículas metálicas, nanoplaca metálica ou nanoconcha metálica (*por exemplo*, ouro coloidal) ou outro marcador detectável, tal como um sistema avidina/biotina. Numa outra modalidade, o parceiro de ligação é um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção, que podem ser conjugados direta ou indiretamente (*por exemplo*, via interação biotina/avidina) a uma enzima, tal como peroxidase de rábano ou fosfatase alcalina ou outra fração de sinalização. Em tais modalidades, o sinal detectável é produzido por adição de um substrato da enzima que produz um sinal detectável, tal como um substrato cromogénico, fluorogénico ou quimioluminescente.

[00135] Um "sistema de detecção" para a detecção de peptídeo ligado, tal como aqui utilizado, pode compreender um parceiro de ligação detectável, tal como um anticorpo específico para o peptídeo. Numa modalidade, o parceiro de ligação é marcado diretamente. Numa outra modalidade, o parceiro de ligação está ligado a um reagente gerador de sinal, tal como uma enzima que, na presença de um substrato adequado, pode produzir um sinal detectável. Uma superfície para a imobilização do peptídeo pode opcionalmente acompanhar o sistema de detecção.

[00136] Em algumas modalidades da invenção, o procedimento de detecção compreende visivelmente inspeccionar o complexo anticorpo-peptídeo

para uma mudança de cor ou inspeccionar o complexo anticorpo-peptídeo para uma mudança físico-química. Alterações físico-químicas podem ocorrer com as reacções de oxidação ou outras reacções químicas. Elas podem ser detectadas a olho nu, usando um espectrofotômetro ou semelhantes.

[00137] Um formato de ensaio particularmente útil é um formato de imunoensaio de fluxo lateral. Os anticorpos para humano ou animal (*por exemplo*, cão, camundongo, veados etc.), imunoglobulinas ou proteínas A, G ou L de estafilococo podem ser marcados com um gerador de sinal ou repórter (*por exemplo*, ouro coloidal) que é seco e colocado sobre uma almofada de fibra de vidro (almofada de aplicação de amostra ou almofada de conjugado). O peptídeo de diagnóstico ou população de peptídeos da invenção é imobilizado sobre a membrana, tal como nitrocelulose ou uma membrana de PVDF (fluoreto de polivinilideno) (*por exemplo*, uma membrana Immobilon™). Quando uma solução de amostra (sangue, soro etc.) é aplicada à almofada de aplicação da amostra (ou flui através da almofada de conjugado), dissolve-se o repórter marcado, que, em seguida, liga-se a todos os anticorpos presentes na amostra. Os complexos resultantes são então transportados para a próxima membrana (PVDF ou nitrocelulose contendo o peptídeo de diagnóstico) por ação capilar. Se os anticorpos contra o peptídeo de diagnóstico ou população de peptídeos estão presentes na amostra, se ligam ao peptídeo de diagnóstico ou população de peptídeos listrado sobre a membrana, gerando desse modo um sinal (*por exemplo*, uma banda que pode ser vista ou visualizada). Um anticorpo adicional específico para o anticorpo marcado ou um segundo anticorpo marcado pode ser utilizado para produzir um sinal de controle.

[00138] Um formato alternativo para o imunoensaio de fluxo lateral compreende os peptídeos ou as composições da invenção sendo conjugados com um ligante (*por exemplo*, biotina) e complexados com o receptor de ligante marcado (*por exemplo*, ouro coloidal-estreptavidina). Os complexos de peptídeo marcados podem ser colocados sobre a almofada de aplicação da amostra ou almofada de conjugado. Anticorpos IgG/IgM anti-humanos ou IgG/IgM anti-animal (*por exemplo*, cão, camundongo, veados) ou outros peptídeos da invenção são imobilizados numa membrana, tal como nitrocelulose ou PVDF ou membrana Porex®, num local de ensaio (*por exemplo*, uma linha de teste). Quando a

amostra é adicionada à almofada de aplicação da amostra, os anticorpos na amostra reagem com os complexos de peptídeo marcado de tal modo que os anticorpos que se ligam a peptídeos da invenção tornam-se indiretamente marcados. Os anticorpos presentes na amostra são então transportados para o lado da membrana (PVDF, membrana Porex® ou nitrocelulose contendo o peptídeo de diagnóstico) por acção capilar e ligam-se aos anticorpos IgG/IgM anti-humanos imobilizados ou IgG/IgM anti-animal (ou proteína A, proteína G, proteínas de fusão de proteína A/G, proteína L ou combinações das mesmas) ou peptídeos imobilizados da invenção. Se qualquer um dos anticorpos da amostra se ligam aos peptídeos marcados da presente invenção, o marcador associado com os peptídeos pode ser visto ou visualizado no local de teste. Outra modalidade deste tipo de dispositivo de fluxo lateral no qual os peptídeos da invenção são utilizados tanto como o agente de captura imobilizado num local de ensaio e como um complexo solúvel marcado para reagir com anticorpos numa amostra é mostrada na Figura 1. Em tais modalidades, para amplificar o sinal de detecção, proteína A, proteína G, e/ou proteínas de fusão de proteína A/G conjugadas com um marcador detectável (*por exemplo*, nanomaterial metálico, como nanopartículas, nanoplaca ou nanoconcha, HRP, β -GAL, ALP, fluoróforo, partícula de látex colorida ou quantum dots) pode ser aplicada ao local de ensaio em que vão se ligar com a região Fc de anticorpos de quaisquer antígenos *Anaplasma* capturados pelos peptídeos imobilizados da invenção. Controles adequados para este ensaio podem incluir, *por exemplo*, um conjugado de ouro coloidal-IgY de galinha localizado na almofada de aplicação da amostra ou a almofada de conjugado, e um anticorpo IgY anti-galinha imobilizado num local de controle localizado próximo ao local de teste. Anti-proteína A de galinha também pode ser utilizada como a linha de controle processual.

[00139] Outro ensaio para a triagem de produtos derivados do sangue ou de outros fluidos fisiológicos ou biológicos é um ensaio de imunoabsorção enzimática, *ou seja*, um ELISA. Tipicamente, num ensaio ELISA, peptídeos isolados ou misturas ou populações de peptídeos da invenção são adsorvidos à superfície de uma cavidade de microtitulação directamente ou através de uma matriz de captura (*por exemplo*, um anticorpo). Sítios de ligação de proteínas residuais e não específicos na superfície são então bloqueados com um agente

apropriado, tal como albumina de soro bovino (BSA), soro normal de cabra inativado pelo calor (NGS) ou tampão de bloqueio BLOTTO (solução tamponada de leite desnatado seco que também contém um conservante, sais e um agente anti-espuma, disponível a partir de Thermo Scientific como Blocker™ BLOTTO). A cavidade é, então, incubada com uma amostra biológica suspeita de conter anticorpo anti-*Anaplasma* (*por exemplo*, anti-*A. phagocytophilum* ou anti-*A. platys*) específico. A amostra pode ser aplicada pura ou, mais frequentemente, pode ser diluída, geralmente numa solução tamponada que contém uma pequena quantidade (0,1-5,0% em peso) de proteína, tal como BSA, NGS ou BLOTTO. Após incubação durante um período de tempo suficiente para permitir a ligação específica ocorrer, a cavidade é lavada para remover a proteína não ligada e, então, incubada com uma concentração ideal de um anticorpo anti-imunoglobulina apropriado (*por exemplo*, para seres humanos, uma imunoglobulina anti-humana (α Hulg) de outro animal, tal como cão, camundongo, vaca etc.) ou outro peptídeo ou a população de peptídeos da invenção que é conjugado com uma enzima ou outro marcador através de procedimentos padrão e é dissolvido em tampão de bloqueio. O marcador pode ser escolhido a partir de uma variedade de enzimas, incluindo peroxidase de rábano (HRP), beta-galactosidase, fosfatase alcalina (ALP), glicose oxidase, β -GAL etc. Tempo suficiente é permitido para a ligação específica ocorrer de novo, em seguida, a cavidade é lavada novamente para remover o conjugado não ligado, e um substrato apropriado para a enzima é adicionado. A cor é deixada a se desenvolver e a densidade óptica do conteúdo da cavidade é determinada visualmente ou instrumentalmente (medido a um comprimento de onda adequado). O valor de OD de corte pode ser definido como os desvios-padrão OD+3 de média (SDs) de pelo menos 50 amostras de soro colhidas a partir de indivíduos a partir de uma área em que anaplasmoses não é endémica ou por outras tais definições convencionais. No caso de um ensaio muito específico, OD+2 SD pode ser usado como um valor de corte.

[00140] Em uma modalidade de um teste ELISA, um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção é imobilizado numa superfície, tal como uma placa de ELISA de 96 cavidades ou fase sólida equivalente que é revestida com estreptavidina ou um composto de ligação à biotina equivalente, tal como avidina ou neutravidina, a uma concentração ótima em tampão de revestimento alcalino

e incubado a 4° C durante a noite. Depois de um número adequado de lavagens com tampões de lavagem padrão, uma concentração óptima de uma forma biotinilada do peptídeo ou uma composição da invenção, dissolvida em uma solução tampão de bloqueio convencional, é aplicada a cada cavidade. Uma amostra é então adicionada, e o ensaio prossegue como acima. Condições para a realização de ensaios de ELISA são bem conhecidas na técnica.

[00141] Numa outra modalidade de um teste ELISA, um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção é imobilizado numa superfície, tal como uma placa de ELISA de 96 cavidades ou fase sólida equivalente através de um parceiro de fusão, *por exemplo*, BSA ou MAPS. Uma amostra é então adicionada e o ensaio prossegue como acima.

[00142] Um formato alternativo para o ensaio ELISA apresenta o peptídeo(s) da invenção sendo ligados (*por exemplo*, fundidos) a uma enzima apropriada, tal como HRP. Etapas para a realização de tal ensaio ELISA incluem: revestir os cavidades de uma placa com IgG/IgM anti-cachorro, anti-gato ou anti-humano; incubação de amostras suspeitas de conter anticorpos para os peptídeos da presente invenção com os IgG/IgM imobilizados anti-espécies; remoção da amostra não reagida e lavar os cavidades com tampão de lavagem adequado; aplicação de peptídeo acoplado a enzima (*por exemplo*, acoplado a HRP) ou população de peptídeos da invenção e permitindo que ele reaja com qualquer anticorpo capturado anti-*Anaplasma*; e visualizar o peptídeo acoplado a enzima através da aplicação de um substrato de enzima apropriado (*por exemplo*, TMB).

[00143] Em outra modalidade, os métodos compreendem um ensaio de aglutinação. Por exemplo, em certas modalidades, as nanopartículas metálicas, nanoplaquetas metálicas ou nanoshell metálicas (*por exemplo*, ouro coloidal etc.) ou esferas de látex são conjugados com peptídeos ou composições da presente invenção. Subsequentemente, o fluido biológico é incubado com o conjugado de grânulo/peptídeo, formando assim uma mistura reacional. A mistura de reação é então analisada para determinar a presença dos anticorpos. Em certas modalidades, os ensaios de aglutinação compreendem a utilização de uma segunda população de partículas, tais como nanopartículas metálicas, nanoplaquetas metálicas ou nanoshell metálicas (*por exemplo*, ouro coloidal, etc.) ou grânulos de

látex, conjugadas com (1) anticorpos específicos para os peptídeos ou as composições da invenção, no caso de um ensaio de competição ou (2) os anticorpos capazes de detectar anticorpos de amostra (*por exemplo*, os anticorpos IgM ou IgG anti-humanos ou anticorpos de IgM ou IgG anti-humanos, anticorpos de IgM ou IgG anti-cão ou anticorpos de IgM ou IgG anti-gato etc.), no caso de um ensaio em sanduíche. Métodos de aglutinação adequados podem compreender centrifugação como um meio de avaliar o grau de aglutinação.

[00144] Em ainda outras modalidades, o peptídeo ou as composições da invenção são electromecânicos ou passam por dot-blot sobre papel de nitrocelulose. Subsequentemente, uma amostra, tal como um fluido biológico (*por exemplo*, soro ou plasma) é incubada com o antígeno blotado, e ao anticorpo no fluido biológico é permitido ligar-se ao antígeno(s). O anticorpo ligado pode então ser detectado, *por exemplo*, por métodos imunoenzimáticos padrão ou por visualização usando nanomaterial metálico, tal como nanopartículas, nanoplacas ou nanoshell acopladas a anticorpos secundários ou outros agentes de ligação de anticorpos, tais como proteína A, proteína G, proteínas de fusão de Proteína A/G, Proteína L ou combinações dos mesmos.

[00145] Deve ser entendido por aqueles versados na técnica que qualquer número de formatos de ensaio de proteína convencionais, particularmente os formatos de imunoensaio, pode ser concebido para utilizar os peptídeos isolados ou populações de peptídeos da presente invenção para a detecção de anticorpos de Anaplasma e infecção por *Anaplasma* (*por exemplo*, *A. phagocytophilum*, *A. platys* ou *A. marginale*) patogênico num sujeito. Esta invenção, portanto, não é limitada pela selecção do formato de ensaio particular, e acredita-se incluir formatos de ensaio que são conhecidas dos versados na técnica.

[00146] Em certas modalidades, a amostra utilizada nos métodos é um fluido corporal, tal como sangue, plasma, soro, fluido cerebrospinal, urina ou saliva. Em outras modalidades, a amostra é um tecido (*por exemplo*, um homogenato de tecido) ou um lisado celular. Em certas modalidades, a amostra é de um animal selvagem (*por exemplo*, um veado ou roedor, tal como um camundongo, chipmunk, esquilo, etc.). Em outras modalidades, a amostra é de um animal de laboratório (*por exemplo*, um camundongo, rato, cobaia, coelho, macaco, primata, etc.). Em outras modalidades, a amostra é de um animal

domesticado ou selvagens (*por exemplo*, um cão, um gato, um cavalo). Em ainda outras modalidades, a amostra é de um ser humano.

[00147] Grande parte da discussão anterior é dirigida para a detecção de anticorpos contra o patogênico *Anaplasma*. No entanto, é para ser entendido que a discussão é igualmente aplicável à detecção de células T ativadas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

[00148] Espera-se que uma resposta imunitária mediada por células (*por exemplo*, uma resposta T-helper) é gerada, uma vez que IgG é produzido. Por conseguinte, espera-se que será possível determinar a reatividade imunológica entre as células T ativadas e um peptídeo da presente invenção. *In vitro* isto pode ser feito através da incubação de células T isoladas a partir do sujeito com um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção e a medição da imunorreatividade, *por exemplo*, por medição da proliferação de células T posterior ou por medição de libertação de citocinas a partir das células T, tais como IFN- γ . Estes métodos são bem conhecidos na técnica.

[00149] Quando um processo da presente invenção é realizado *in vivo*, qualquer um de uma variedade de ensaios convencionais pode ser utilizado. Por exemplo, pode-se realizar um ensaio sob a forma de um teste de pele, *por exemplo*, através da injeção intradérmica, no sujeito, de um peptídeo ou uma população de peptídeos da invenção. Uma reação positiva da pele no local de injeção indica que o indivíduo tenha sido exposto a e infectado com uma espécie patogênica de *Anaplasma* capaz de causar anaplasmoses, e uma resposta da pele negativa no local da injeção indica que o sujeito não tenha sido tão exposto/infectado. Estes ou outros testes *in vivo* se baseiam na detecção de uma resposta de célula T no indivíduo.

[00150] A presente invenção também fornece um método para diagnosticar num sujeito a anaplasmoses. Anaplasmoses em humanos foi anteriormente conhecida como erliquiose granulocítica humana e tem mais recentemente sido chamada de anaplasmoses granulocítica humana. Algumas cepas de *Anaplasma* (*por exemplo*, *A. platys*) causam trombocitopenia cíclica em animais (*por exemplo*, em cães, a doença é denominada trombocitopenia infecciosa canina cíclica (ICCT)). Assim, a presente invenção também proporciona um método para o diagnóstico de trombocitopenia cíclica ou ICCT

num sujeito. O indivíduo pode ser um indivíduo suspeito de ter o anticorpo contra um agente causador de anaplasmoses ou trombocitopenia cíclica. O método de diagnóstico é útil para o diagnóstico de indivíduos que apresentam os sintomas clínicos da anaplasmoses ou trombocitopenia cíclica. Os sintomas clínicos da anaplasmoses humana (*isto é*, anaplasmoses granulocítica humana) incluem, mas não estão limitados a febre, dor de cabeça, mal-estar, arrepios, mialgia, dor abdominal, tosse, confusão, trombocitopenia, leucopenia, e os níveis das transaminases séricas. Os sintomas clínicos da anaplasmoses ou trombocitopenia cíclica (nos animais *por exemplo* caninos) incluem, mas não estão limitados a anemia profunda, taquicardia, dispnéia, diarreia, anorexia, perda de peso, ataxia, leucopenia, letargia, linfadenomegalia, palidez das membranas mucosas, febre, descarga nasal mucopurulenta, inapetência, membros fracos ou dolorosos e imperfeições.

[00151] Em algumas modalidades, os métodos compreendem o contato de uma amostra do sujeito com um peptídeo da invenção, e detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo compreendendo o referido peptídeo, em que a formação do referido complexo é indicativo do sujeito ter anaplasmoses ou trombocitopenia cíclica. Em certas modalidades, os métodos compreendem o contato da amostra com uma população de dois, três, quatro ou mais (*por exemplo*, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 ou mais) diferentes peptídeos da invenção e detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo compreendendo os referidos um ou mais peptídeos na população, em que a formação do complexo é indicativa do sujeito ter anaplasmoses ou trombocitopenia cíclica. Por exemplo, numa modalidade particular, os métodos compreendem o contato da amostra com uma população de dois ou mais diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 1. Numa outra modalidade particular, os métodos compreendem o contato da amostra com uma população de dois ou mais diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3. Numa outra modalidade ainda, os métodos compreendem o contato da amostra com uma população de dois ou mais diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 4. Em algumas modalidades, os métodos

compreendem o contato da amostra com uma população de dois ou mais diferentes peptídeos isolados, em que cada peptídeo isolado compreende uma sequência de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 ou SEQ ID NO: 543.

[00152] Em certas modalidades, os métodos compreendem o contato da amostra com uma mistura de um ou mais peptídeos da invenção e um ou mais outros peptídeos (*por exemplo*, um peptídeo de *Ehrlichia* ou fragmento ou epítopo antigênico e/ou um peptídeo de *Borrelia* ou fragmento antigênico ou epítopo do mesmo). Co-infecções com espécies de *Anaplasma* e *Ehrlichia* ou *Borrelia* são comuns. Assim, os métodos de diagnóstico da presente invenção que empregam populações de peptídeos que compreendem os peptídeos de *Anaplasma* aqui descritos e um ou mais peptídeos de uma espécie de *Ehrlichia* ou *Borrelia* são úteis para a detecção de tais co-infecções. Exemplares peptídeos antigênicos de *Ehrlichia* que podem ser utilizados com os peptídeos de *Anaplasma* da invenção são descritos no Pedido US N 14/052.296 e na Patente U.S. N° 8.828.675, ambos os quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade. Exemplares peptídeos antigênicos de *Borrelia* que podem ser utilizados com os peptídeos de *Anaplasma* da invenção são descritos nas Patentes US Nos. 8.568.989 e 8.758.772, ambas as quais são aqui incorporadas por referência na sua totalidade. Outros antígenos de *Ehrlichia* e *Borrelia* são conhecidos na técnica e podem ser utilizados em combinação com os peptídeos de *Anaplasma* da invenção para detectar co-infecções num indivíduo.

[00153] Em certas modalidades, o peptídeo ou cada peptídeo na população é um peptídeo isolado (*por exemplo*, sintético e/ou purificado). Em algumas modalidades, o peptídeo ou a população de diferentes peptídeos é ligado ou imobilizado sobre um substrato (*por exemplo*, um suporte sólido ou semissólido). Por exemplo, em certas modalidades, o substrato é um grânulo ou uma pluralidade de grânulos (*por exemplo*, uma coloidal ou de outro tipo de partícula ou nanomaterial metálico tais como nanopartículas, nanoplaca ou nanoconcha), um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral (*por exemplo*, uma membrana porosa), um caminho de fluxo num rotor analítico ou centrífugo, um blot (*por exemplo*, Western blot, dot blot ou slot blot), um tubo ou uma cavidade (*por exemplo*, em uma placa adequada para um ensaio

ELISA) ou um sensor (*por exemplo*, um sensor eletroquímico, ótico ou opto-eletrônico). Em algumas modalidades, o peptídeo ou a população de peptídeos está ligado ou imobilizado sobre um suporte sólido através de uma nanocamada metálica que, em algumas modalidades, pode ser constituída por cádmio, zinco, mercúrio ou um metal nobre (*por exemplo* ouro, prata, cobre e platina).

[00154] Há um número de diferentes ensaios convencionais para detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo que compreende um peptídeo da presente invenção. Por exemplo, o passo de detecção pode incluir a realização de um ensaio de ELISA, realização de um imunoensaio de fluxo lateral, realização de um ensaio de aglutinação, realização de um teste de desvio de comprimento de onda, a análise da amostra utilizando um Western blot, um slot blot ou um dot blot, realizando um teste de anticorpo fluorescente indireto, analisando a amostra num rotor analítico ou centrífugo ou analisando a amostra com um sensor eletroquímico, ótico ou opto-eletrônico. Estes diferentes ensaios são acima descritos e/ou são bem conhecidos dos versados na técnica.

[00155] Em certas modalidades, a amostra utilizada nos métodos de diagnóstico da invenção é um fluido corporal, tal como sangue, plasma, soro, fluido cerebrospinal, urina ou saliva. Em outras modalidades, a amostra é um tecido (*por exemplo*, um homogenato de tecido) ou um lisado celular. Em certas modalidades, o sujeito é um animal selvagem (*por exemplo*, um veado ou roedor, tal como um camundongo, chipmunk, esquilo, etc.). Em outras modalidades, o sujeito é um animal de laboratório (*por exemplo*, um camundongo, rato, cobaia, coelho, macaco, primata, etc.). Em outras modalidades, o sujeito é um animal domesticado ou selvagens (*por exemplo*, um cão, um gato, um cavalo). Em ainda outras modalidades, o sujeito é um ser humano.

[00156] A presente invenção também inclui um método para identificar as espécies de *Anaplasma* infectando um sujeito. Tais métodos auxiliam no tratamento da infecção no sujeito, porque os regimes de tratamento podem variar, dependendo da espécie particular de *Anaplasma* que causa a infecção. Os métodos de identificação de espécies também são úteis na epidemiologia de infecções de *Anaplasma* e anaplasnose. Em certas modalidades, o processo distingue entre infecções causadas por *A. phagocytophilum* e infecções causadas por *A. platys*. Numa modalidade, o método compreende o contato de uma

amostra do sujeito com um primeiro peptídeo ou população de peptídeos isolados e de um segundo peptídeo ou população de peptídeos isolados, em que o primeiro peptídeo ou população de peptídeos isolados liga-se especificamente a anticorpos contra antígenos de múltiplas espécies de *Anaplasma*, e em que o segundo peptídeo ou população de peptídeos isolados liga-se especificamente a anticorpos contra os antígenos de uma única espécie de *Anaplasma*. A formação de um primeiro complexo anticorpo-peptídeo compreendendo o referido primeiro peptídeo ou um ou mais peptídeos da primeira população e a formação de um segundo complexo anticorpo-peptídeo compreendendo o referido segundo peptídeo ou um ou mais peptídeos da segunda população é detectada, em que a formação de ambos os primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com a espécie de *Anaplasma* que é especificamente ligada pelo segundo peptídeo ou população de peptídeos isolados.

[00157] Em certas modalidades, o primeiro peptídeo ou primeira população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum*, *A. platys* e *A. marginale*. Em certas modalidades, o primeiro peptídeo ou primeira população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum* e *A. platys*. Por exemplo, numa modalidade, o primeiro peptídeo compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3. Numa outra modalidade, a primeira população de peptídeos compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 3 ou um seu fragmento. Em tais modalidades, a primeira população de peptídeos pode compreender três ou mais peptídeos listados na Tabela 3 (*ou seja*, três ou mais peptídeos compreendendo ou consistindo em sequências de SEQ ID NOs: 199-350).

[00158] Em certas modalidades, o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. platys*. Por exemplo, numa modalidade, o segundo peptídeo compreende uma sequência de SEQ ID NO: 4. Numa outra modalidade, a segunda população de peptídeos compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 4 ou um seu fragmento. Em tais modalidades, a primeira população de peptídeos pode compreender três ou mais peptídeos listados na Tabela 4 (*ou seja*, três ou mais

peptídeos compreendendo ou consistindo em sequências de SEQ ID NOs: 351-398). Em outras modalidades, o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos podem compreender uma sequência de SEQ ID NOs. 6-8. Em modalidades relacionadas, a segunda população de peptídeos compreende três ou mais peptídeos diferentes listados nas Tabelas 6 ou 7 (*ou seja*, três ou mais peptídeos compreendendo ou consistindo em sequências de SEQ ID NOs: 407-464).

[00159] Em tais modalidades em que o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos especificamente se liga a anticorpos contra antígenos de *A. platys*, formação de ambos os primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com *A. platys*. Em modalidades relacionadas, a formação do complexo primeiro anticorpo-peptídeo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo, indica que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*. Por exemplo, em certas modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 4, e a formação de ambos o primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo é detectada indicando que o sujeito está infectado com *A. platys*. Em outras modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida por qualquer uma das SEQ ID NOs: 6 e 8, e a formação de ambos o primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo é detectada, o que indica que o sujeito está infectado com *A. platys*. Em algumas modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 4, e a formação do complexo primeiro anticorpo-peptídeo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo, é detectada, o que indica que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*. Em outras modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida por qualquer das SEQ ID NOs: 6 a 8, e a formação do complexo primeiro anticorpo-peptídeo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo, é detectada, o que indica que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*.

[00160] Em modalidades alternativas, o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum*. Por exemplo, numa modalidade, o segundo peptídeo compreende uma sequência de SEQ ID NO: 1. Numa outra modalidade, a segunda população de peptídeos compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de SEQ ID NO: 1 ou um seu fragmento. Em tais modalidades, a primeira população de peptídeos pode compreender três ou mais peptídeos listados na Tabela 1 (*ou seja*, três ou mais peptídeos compreendendo ou consistindo em sequências de SEQ ID NOs: 10-117). Em outras modalidades, o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos podem compreender uma sequência de SEQ ID NOs. 2, 5 ou 9. Em modalidades relacionadas, a segunda população de peptídeos compreende três ou mais peptídeos diferentes listados nas Tabelas 2, 5 ou 8 (*ou seja*, três ou mais peptídeos compreendendo ou consistindo em sequências de SEQ ID NOs: 118-198, 399-406 ou 465-542).

[00161] Em tais modalidades em que o segundo peptídeo ou segunda população de peptídeos especificamente se liga a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum*, formação de ambos os primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*. Em modalidades relacionadas, a formação do complexo primeiro anticorpo-peptídeo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo, indica que o sujeito está infectado com *A. platys*. Por exemplo, em certas modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 1, e a formação de ambos o primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo é detectada indicando que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*. Em outras modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida por qualquer uma das SEQ ID NOs: 2, 5 ou 9, e a formação de ambos o primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo é detectada, o que indica que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*. Em algumas modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 1, e a formação do complexo primeiro

anticorpo-peptídeo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo, é detectada, o que indica que o sujeito está infectado com *A. platys*. Em outras modalidades, a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida por qualquer das SEQ ID NOs: 2, 5 ou 9, e a formação do complexo primeiro anticorpo-peptídeo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo, é detectada, o que indica que o sujeito está infectado com *A. platys*.

[00162] Os complexos primeiro e segundo de anticorpo-peptídeo podem ser detectados utilizando vários métodos, incluindo, mas não se limitando a realizar um ensaio de ELISA, a execução de um ensaio de fluxo lateral, realizar um ensaio de aglutinação, a execução de um Western blot, um slot blot ou dot blot, realizar um teste de desvio de comprimento de onda, realizar uma teste de anticorpo fluorescente indireto ou passar a amostra através de um rotor analítico ou centrífugo. Tais métodos e dispositivos para utilização nos métodos estão descritos em detalhes acima.

[00163] Em outras modalidades, o método para identificar as espécies de *Anaplasma* infectando um sujeito compreende o contato de uma amostra do sujeito com uma primeira população de peptídeos e um extrato celular de uma única espécie *Anaplasma*, em que a primeira população de peptídeos isolados se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de múltiplas espécies *Anaplasma*; detectar a formação de um complexo primeiro anticorpo-peptídeo que compreende um ou mais peptídeos na primeira população; e detectar a formação de um complexo de extrato de células de anticorpo que compreende um ou mais componentes do extrato celular, em que a formação de ambos o primeiro extrato de células anticorpo complexo e anticorpo-peptídeo complexo indicam que o sujeito está infectado com as espécies *Anaplasma* produzidas no extrato celular. Em algumas modalidades, o extrato celular é de *A. phagocytophilum*.

[00164] Um extrato celular compreende componentes de células. Ele pode ser gerado por lise de células (por exemplo, com detergentes) e a remoção de componentes indesejáveis (por exemplo, usando centrifugação para remover a matéria insolúvel, tais como fragmentos de membranas, vesículas e núcleos). Um extrato celular pode ser um lisado de células inteiras ou lisado de células parciais.

Extratos de células normalmente consistem principalmente de citosol. Vários métodos de preparação de extratos de células são bem conhecidos dos versados na técnica. Kits comerciais estão disponíveis para a geração de extratos celulares.

Kits

[00165] Em ainda outro aspecto, a invenção fornece kits para utilização nos ensaios de detecção e diagnóstico aqui descritos. Em algumas modalidades, os kits compreendem um ou mais peptídeos da invenção. Em certas modalidades, os kits compreendem uma população de peptídeos da invenção. Os peptídeos podem compreender uma sequência da SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 543 ou seus fragmentos. Numa modalidade, os kits compreendem duas ou mais populações de peptídeos da invenção. Por exemplo, numa modalidade, os kits compreendem uma primeira população de peptídeos definidos pela SEQ ID NO: 3 e uma segunda população de peptídeos definidos pela SEQ ID NO: 4. Em modalidades particulares, os peptídeos são ligados ou imobilizados num suporte sólido. Em algumas modalidades, os peptídeos são ligados ou imobilizados num suporte sólido por meio de uma nanocamada metálica (*por exemplo*, nanocamada de cádmio, zinco, mercúrio ouro, prata, cobre ou platina). Em certas modalidades, o suporte sólido é um grânulo ou uma pluralidade de grânulos (*por exemplo*, uma partícula coloidal ou um nanomaterial metálico, tal como nanopartículas, nanoplacas ou nanoshell), um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral, um caminho de fluxo num rotor analítico ou centrífugo, um tubo ou uma cavidade (*por exemplo*, em uma placa) ou um sensor (*por exemplo*, um sensor eletroquímico, óptico ou opto-eletrônico).

[00166] Reagentes para determinados tipos de ensaios também podem ser fornecidos em kits da invenção. Assim, os kits podem incluir uma população de grânulos (*por exemplo*, adequados para um ensaio de aglutinação ou um ensaio de fluxo lateral) ou uma placa (*por exemplo*, uma placa adequada para um ensaio ELISA). Em outras modalidades, os kits ainda compreendem ainda um dispositivo, tal como um dispositivo de lateral imunoensaio de fluxo, um rotor analítico ou centrífuga, uma Western blot, um dot blot, uma slot blot, um sensor

eletroquímico, um óptico ou opto-eletrônico. A população de grânulos, a placa, e os dispositivos são úteis para a realização de um imunoenensaio. Por exemplo, eles podem ser úteis para detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo compreendendo um anticorpo de uma amostra e um peptídeo da presente invenção. Em certas modalidades, um peptídeo, uma população de diferentes peptídeos da invenção ou uma composição de peptídeo da invenção, é ligado ou imobilizado sobre os grânulos, a placa ou o dispositivo.

[00167] Além disso, os kits podem incluir vários diluentes e tampões, conjugados marcados ou outros agentes para a detecção de antígenos ou anticorpos ligados especificamente (por exemplo, reagentes de marcação), e outros reagentes geradores de sinal, tais como substratos enzimáticos, cofatores e cromogênios. Numa modalidade, os kits compreendem um reagente marcador capaz de se ligar a um anticorpo que reconhece um epítipo de um ou mais peptídeos da invenção. Por exemplo, em algumas modalidades, o kit compreende um anticorpo de IgG ou IgM anti-humano, anti-canino ou anti-felino conjugado com um marcador detectável (*por exemplo*, um nanomaterial metálico, tal como uma nanopartícula, um nanoplaca ou uma nanoconcha metálica, uma nanocamada metálica, um fluoróforo, um quantum dot, uma partícula de látex colorida ou uma enzima) como um reagente de marcação. Em outras modalidades, o kit compreende proteína A, proteína G, proteínas de fusão de proteína A/G, proteína L ou suas combinações, conjugado com um marcador detectável (*por exemplo*, um nanomaterial metálico, tal como uma nanopartícula metálica, uma nanoplaca metálica, uma nanoconcha metálica, uma nanocamada metálica, um fluoróforo, um quantum dot, uma partícula de látex colorida ou uma enzima) como um reagente de marcação. Uma proteína de fusão de proteína A/G exemplar combina quatro domínios Fc de ligação de proteína A com dois de proteína G. *Veja-se, por exemplo*, Sikkema, J.W.D, Amer. Biotech. Lab, 7:42, 1989 e Eliasson *et al.*, J. Biol. Chem. 263, 4.323-4.327, 1988, ambos os quais são aqui incorporados por referência na sua totalidade. Em ainda outras modalidades, os reagentes de marcação do kit são uma segunda população de peptídeos da invenção conjugados com um marcador detectável (*por exemplo*, um nanomaterial metálico, tal como uma nanopartícula metálica, uma nanoplaca metálica, uma nanoconcha metálica, uma nanocamada metálica, um fluoróforo,

uma partícula de látex colorida ou uma enzima). A segunda população de peptídeos podem ser a mesma ou diferente do que a primeira população de peptídeos, a qual pode opcionalmente ser ligada ou imobilizada sobre um suporte sólido.

[00168] Outros componentes de um kit podem ser facilmente determinados por aqueles versados na técnica. Tais componentes podem incluir reagentes de revestimento, anticorpos policlonais ou de captura monoclonais específicos para um peptídeo da invenção ou um cocktail de dois ou mais dos anticorpos, extratos purificados ou semi-purificados destes antígenos como padrões, anticorpos detectores de anticorpo monoclonal, um anticorpo anti-camundongo, anti-cão, anti-gato, anti-galinha ou anticorpo anti-humano conjugado com um marcador detectável, gráficos indicadores para comparações colorimétricas, luvas descartáveis, instruções de descontaminação, bastões de aplicador ou recipientes, um copo de preparação de amostra etc. Numa modalidade, um kit compreende tampões ou outros reagentes adequados para a constituição de um meio de reacção permitindo a formação de um complexo peptídeo-anticorpo.

[00169] Tais kits proporcionam um modo conveniente e eficiente para um laboratório clínico diagnosticar a infecção por uma espécie patogênica de *Anaplasma*, como o *A. phagocytophilum*, *A. platys* ou *A. marginale*. Assim, em certas modalidades, os kits compreendem ainda uma instrução. Por exemplo, em certas modalidades, os kits compreendem uma instrução que indica como a utilização de um peptídeo ou população de peptídeos da invenção detecta um anticorpo para um ou mais antígenos de *Anaplasma* ou para diagnosticar anaplasmoses ou trombocitopenia cíclica. Em certas modalidades, os kits compreendem uma instrução que indica como utilizar uma população de grânulos, uma placa ou um dispositivo (*por exemplo*, compreendendo um peptídeo ou uma população de diferentes peptídeos da presente invenção) para detectar um anticorpo para um ou mais antígenos de *Anaplasma* ou para diagnosticar anaplasmoses ou trombocitopenia cíclica.

[00170] Os peptídeos, composições e dispositivos que compreendem os peptídeos, kits e métodos da invenção oferecem uma série de vantagens. Por exemplo, eles permitem uma detecção simples, barata, rápida, sensível e precisa

da anaplasrose ou trombocitopenia cíclica, e evitam reatividade cruzada sorológica com outras condições com sintomas semelhantes. Isto permite um diagnóstico preciso. Além disso, um teste de diagnóstico da presente invenção (*por exemplo*, um ensaio ELISA, imunoenaios de fluxo lateral ou ensaio de aglutinação) é útil para amostras de soro que contêm anticorpos anti-MSP 2/p44 ou anti-OMP/p44 ou outros anticorpos produzidos em resposta a uma vacina baseada nas proteínas de superfície externa de *Anaplasma*.

[00171] Os exemplos seguintes ilustram vários aspectos da invenção. Os exemplos devem, é claro, ser entendidos como sendo meramente ilustrativos de apenas certas modalidades da invenção e não constituem limitações ao âmbito da invenção.

EXEMPLOS

Exemplo 1. Ensaio ELISA

[00172] Duas diferentes populações de peptídeos foram sintetizadas utilizando procedimentos de síntese padrão. Cada peptídeo na primeira população de peptídeos (APL-ID1) continha uma sequência de SEQ ID NO: 3. A primeira população de peptídeos liga-se especificamente a anticorpos produzidos por ambos *A. phagocytophilum* e *A. platys*. Cada peptídeo na segunda população de peptídeos (APL-ID2) continha uma sequência de SEQ ID NO: 4. A segunda população de peptídeos liga-se especificamente a anticorpos produzidos principalmente por *A. platys*.

[00173] Cada peptídeo nas duas populações estava ligado separadamente à albumina de soro de bovino (BSA) de proteína carreadora utilizando uma química de tio-éter. Os resultantes conjugados BSA-peptídeo foram usados como entidades de captura em placas de ELISA de 96 cavidades para criar dois ensaios ELISA separados (uma população de peptídeos por placa). As placas foram bloqueadas com leite em pó sem gordura a 5% dissolvido em 25 mM de tampão de borato (pH 9,5) para prevenir ligação indesejável não-específica.

[00174] Os cães foram inoculados com culturas de células de pulga infectadas com *A. phagocytophilum* para iniciar a exposição dos cães a *A. phagocytophilum*. Sangue estabilizado obtido a partir de animais conhecidos por abrigar infecção de *A. platys*, tal como determinado por PCR e exame microscópico, foi inoculado num grupo separado de cães para iniciar a infecção

com *A. platys*. Amostras de sangue de cada grupo de cães inoculados foram recolhidas em vários dias após a inoculação.

[00175] Plasma preparado a partir das amostras de sangue foi testado quanto à reatividade com os peptídeos APL-ID1 e APL-ID2 utilizando as placas de ELISA descritas acima. As amostras de plasma foram diluídas 1: 250 a 1: 1000 em solução de bloqueio e adicionado a cavidades bloqueados em cada uma das duas placas de ELISA. Após um período de incubação de uma hora, os materiais que não reagiram foram removidos por lavagem dos microcavidades. O IgG ou IgM de cão de anti-peptídeo especificamente capturado foi detectado por reacção com Proteína A HRP-marcada. HRP foi testado usando um substrato TMB comercial. A densidade óptica de cada cavidade foi lida a 650 nm com um leitor de placas.

[00176] Reatividades de amostras de plasma obtidas a partir de um cão infectado com *A. platys* (15-13) cão e um cão infectado com *A. phagocytophilum* (3-13) com peptídeos APL-ID1 e peptídeos APL-ID2 são apresentadas nas Figuras 5 e 6, respectivamente. As amostras do cão infectado com *A. phagocytophilum* (cão 3-13) mostrou reatividade com peptídeos APL-ID1, enquanto que a reatividade de tais amostras com peptídeos APL-ID2 foi muito menor. Em contraste, as amostras e cão infectado com *A. platys* (cão 15-13) mostraram reatividade semelhante no sentido de ambas as populações de peptídeos. Estes resultados experimentais mostraram que as populações de peptídeos definidas pela SEQ ID NO: 3 (APL-ID1) e SEQ ID NO: 4 (APL-ID2) têm um elevado grau de sensibilidade na detecção da presença de anticorpos para antígenos de *Anaplasma*. Além disso, os resultados mostram que estas duas populações de peptídeos podem ser utilizadas para identificar as espécies infectantes de *Anaplasma*. Uma amostra que testa positivo para reatividade com peptídeos APL-ID1, mas não peptídeos APL-ID2, é positiva para *A. phagocytophilum*, ao passo que uma amostra que testa positiva para a reatividade de ambos os peptídeos é positiva para *A. platys*.

Exemplo 2. Ensaio de fluxo lateral

[00177] Um imunoensaio de fluxo lateral num formato duplo de antígeno em sanduíche foi construído para detectar a presença de anticorpos específicos para antígenos de *Anaplasma*. Uma população de peptídeos que compreendem

peptídeos com uma sequência de SEQ ID NO: 3 (APL-ID1), SEQ ID NO: 6 (APL-ID5.1) ou SEQ ID NO: 7 (APL-ID6) foi ligada a BSA e os complexos resultantes foram usados tanto como teste de conjugado (peptídeos marcados com nanopartículas de ouro) e como captura (imobilizada na linha de teste do dispositivo). O sinal produzido na linha de teste foi aumentado por conjugados de Proteína A e Proteína G com ouro (amplificador) adicionados ao conjugado de peptídeo marcado. O dispositivo está representado na Figura 7.

[00178] O funcionamento do dispositivo é ilustrado na Figura 8. Para conduzir o ensaio, uma gota de sangue completo anti-coagulado, soro ou plasma é aplicada à porta de amostra do dispositivo. A almofada de separação de sangue filtra células de sangue do sangue total. Plasma (ou soro) mobiliza e se liga especificamente ao conjugado de ensaio presente na almofada de conjugado e quaisquer complexos de anticorpo-peptídeo formados migram para a membrana de nitrocelulose contendo as regiões de controlo e o teste. A aplicação de um tampão Chase Buffer após a aplicação da amostra move os conjugados de teste ligados e livres através da membrana de nitrocelulose para a almofada absorvente superior. Os complexos de peptídeo-anticorpo marcados movem-se para a linha de teste em que peptídeos imobilizados capturam complexos de peptídeo-anticorpo marcados através dos segundos sítios de ligação nos anticorpos. Conjugados de ouro com Proteína A e proteína G-ouro na mistura de conjugado se ligam aos anticorpos capturados amplificando o sinal de detecção. O aparecimento de uma linha vermelha no local de ensaio e uma segunda linha vermelha no local de controle indica a presença de anticorpos para spp. de *Anaplasma* (por exemplo, *phagocytophilum* ou *platys*) na amostra. O aparecimento de uma linha vermelha apenas no local de controle indica a ausência de anticorpos para todas as spp. de *Anaplasma* na amostra. O teste é considerado inválido se (i) um sinal na linha de teste aparece, mas nenhum sinal na linha de controle está presente ou (ii) o sinal não é observado em qualquer das linhas de teste ou de controle.

[00179] Noventa e cinco amostras de plasma de cão positiva para spp. de *Anaplasma* conforme determinado pelo ensaio de imunofluorescência direta, IDEXX SNAP 4DX Plus™, e ELISA, utilizando a mesma mistura de peptídeos, foram testadas no dispositivo de fluxo lateral. Além disso, cinquenta e uma

amostras de plasma de cão que estavam determinadas a ser negativas para spp. de *Anaplasma* pelos mesmos métodos também foram avaliadas. Cada uma das amostras foi testada duas vezes no dispositivo. Cada teste foi realizado por um operador diferente. No final do período de ensaio, cada ensaio foi marcado pelo operador como positivo ou negativo. Além disso, as imagens digitalizadas de cada teste foram obtidas e analisadas pelo método ImageJ. Um teste em que ambos os operadores concordaram com a designação foi registrado como a mesma designação (pos/neg). Onde os operadores discordaram, um terceiro teste foi executado por um terceiro operador e tomado como o resultado final (pos/neg) para essa amostra. Os resultados estão resumidos na Tabela 9 abaixo. O ensaio de fluxo lateral teve uma sensibilidade de 97,9% e uma especificidade de 90,2%. Este exemplo demonstra que uma população de peptídeos que compreende os peptídeos possuindo uma sequência de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6 ou SEQ ID NO: 7 pode eficazmente detectar anticorpos contra antígenos de *Anaplasma* quando utilizada num formato de ensaio de fluxo lateral.

Tabela 9. Resultados de Ensaio de Fluxo Lateral de Amostras de Anaplasma Positivas e Negativas Conhecidas

	Negativa por Fluxo Lateral	Positiva por Fluxo Lateral
Número de amostras negativas conhecidas	46	5
Número de amostras positivas conhecidas	2	93

Exemplo 3. Ensaio de Anticorpo Fluorescente Indireto

[00180] Um teste de anticorpo fluorescente indireto é construído usando grânulos de látex revestidos com um ou mais peptídeos da invenção. Em certas modalidades, os peptídeos definidos pela SEQ ID NO: 3 (APL-ID1), SEQ ID NO: 4 (APL-ID2), e/ou SEQ ID NO: 6 (APL-ID5.1) são usados. Os peptídeos da invenção são revestidos sobre grânulos de látex derivatizados com maleimida usando química de tio-éter. Alternativamente, os peptídeos da invenção podem ser conjugados com BSA através de tio-éter ou químicas semelhantes e são absorvidos passivamente para grânulos de látex. Uma população de tais grânulos é então imobilizada sobre uma lâmina de vidro usando técnicas conhecidas.

[00181] Para conduzir o ensaio, uma gota de soro ou plasma (adequadamente diluída com um tampão adequado) de cães com suspeita de anticorpos anti-*Anaplasma* é aplicada à lâmina de vidro revestida com grânulos de látex. Após um período de incubação apropriado, os materiais que não reagiram são removidos por lavagem e uma gota de IgG (ou IgM) anti-cão marcada por fluorescência é aplicada e as lâminas são incubadas por um período de tempo adicional. A preparação final é vista sob um microscópio de fluorescência para determinar grânulos de látex marcados por fluorescência. A classificação do teste de soro/plasma como positivo ou negativo é baseada na comparação com os controles apropriados. Um marcador de enzima pode ser utilizado em lugar do marcador fluorescente no caso em que a etapa de visualização emprega um substrato da enzima. Por exemplo, IgG/IgM anti-cachorro marcado com fosfatase alcalina pode ser visualizado por exposição da lâmina a um substrato de BT BCIP-nitro. Proteína marcada A, Proteína G ou fusão de Proteína A/G pode ser utilizada em lugar de IgG anti-cão e IgM anti-cão para detectar anticorpos ligados aos grânulos revestidos com peptídeo.

Exemplo 4. Identificação das espécies de *Anaplasma* Infectando Cães nas Amostras Desconhecidas

[00182] Este exemplo demonstra a identificação bem-sucedida das espécies de *Anaplasma* infectando cães usando as populações de peptídeos da invenção e extratos celulares de *Anaplasma*

[00183] Quarenta e uma amostras de plasma de cão, que foram todas testadas e classificadas por inspeção visual como positivas para infecção de *Anaplasma* usando o ensaio IDEXX SNAP 4DX Plus TM foram testadas num ensaio de ELISA semelhante ao descrito no Exemplo 1. Três placas de 96 cavidades de ELISA foram revestidas com diversos peptídeos ou extrato de células (preparado utilizando um kit comercial da Sigma-Aldrich) à temperatura ambiente durante 1 hora. Placa 1 foi revestida com 100 µl/cavidade de uma mistura de três populações peptídicas: APL-ID1 (SEQ ID NO: 3, concentração final de 7 µg/mL), APL-ID5.1 (SEQ ID NO: 6, concentração final de 7 µg/mL) e APL-ID6 (SEQ ID NO: 7, concentração final de 7 µg/mL). Placa 2 foi revestida com 100 µl/cavidade de uma mistura de duas populações de peptídeos: APL-ID5.1 (SEQ ID NO: 6, concentração final de 7µg/mL), e APL-ID6 (SEQ ID NO: 7,

concentração final de 7µg/mL). Placa 3 foi revestida com 100 µl/cavidade de um lisado de *A. phagocytophilum* de células inteiras (concentração final de 5 µg/mL). A mistura de peptídeos na placa 1 liga-se especificamente a anticorpos produzidos por ambos *A. phagocytophilum* e *A. platys*. A mistura de peptídeos na placa 2 liga-se especificamente a anticorpos produzidos principalmente por *A. platys*. O lisado de células inteiras na placa 3 se liga especificamente a anticorpos produzidos principalmente por *A. phagocytophilum*. As placas foram então lavadas.

[00184] As placas foram então bloqueadas com 300 µL/cavidade de 7% de leite magro em 250 mM de tampão de borato (pH 9,5) à temperatura ambiente durante 1 hora para evitar ligação indesejável não-específica. As placas foram lavadas novamente.

[00185] As amostras de plasma de cães, com ou sem infecção de *Anaplasma* (as "amostras" desconhecidas) foram diluídas a 1/100 em leite de 7%, e 100 µL/cavidade de cada amostra foram adicionados às placas de ELISA e incubados à temperatura ambiente durante 1 hora. As placas foram lavadas novamente.

[00186] As placas foram então incubadas com 100 µl/cavidade de Proteína A-HRP (diluído a 1: 1000) à temperatura ambiente durante 1 hora. As placas foram lavadas novamente, e foram adicionados 100 µL/cavidade de substrato (TMB) e incubou-se à temperatura ambiente durante 10 minutos. As leituras de OD de todas as amostras foram obtidas e comparadas com curvas padrão. Para placa 1 e a placa 2 (as duas placas de "peptídeo"), diluições em série de amostras positivas reunidas foram usadas para criar curvas padrão. Para placa 3 (a placa de lisado), uma curva de dois pontos foi feita usando uma amostra negativa e uma amostra canina a partir de um cão que foi experimentalmente infectado com *A. phagocytophilum* ("3-13").

[00187] Resultados de identificação de espécie destas amostras utilizando o ELISA de extrato de célula-peptídeo, juntamente com os resultados do teste SNAP e um ensaio de imunofluorescência indireta (IFA) são mostrados na Tabela 10. Ambos os testes SNAP e IFA apenas detectaram *Anaplasma* no nível do gênero e não poderiam ser utilizados para determinar as espécies de *Anaplasma*.

Tabela 10. Identificação de Espécies de *Anaplasma* em amostras desconhecidas

ID de amostra	Pontuação de Combo ^a	Pontuação de platys ^b	Pontuação de WCL de phago ^c	Espécies de <i>Anaplasma</i> determinadas com peptídeos e extrato celular ^d	SNAP 4DX Plus™ (Anaplasma) Resultado ^e	Título de IFA ^f
1	214	986	315	platys	31.6%	25600
2	9	1	97	NEG	40.1%	25600
3	37	19	107	phago	14.7%	12800
4	17	5	151	phago	30.1%	25600
5	68	24	38	phago	18.3%	6400
6	37	27	47	phago	23.8%	6400
7	21	6	30	phago	7.0%	3200
8	10	2	39	phago	18.7%	6400
9	29	2	172	phago	32.0%	25600
10	12	1	86	phago	14.5%	12800
11	6	-1	89	NEG	12.4%	3200
12	165	0	110	phago	39.0%	25600
13	52	2	362	phago	37.3%	25600
14	18	-1	69	phago	40.0%	25600
15	49	3	206	phago	39.3%	25600
16	26	10	79	phago	22.2%	3200
17	34	4	30	phago	25.3%	6400
18	40	2	82	phago	34.3%	25600
19	6	2	51	NEG	11.4%	3200
20	22	0	141	phago	26.8%	1600
21	302	245	8	platys	25.9%	12800
22	91	33	10	platys	17.5%	1600
23	12	7	24	phago	46.3%	51200
24	483	714	6	platys	11.7%	6400
25	61	53	18	platys	19.7%	6400
26	117	122	49	platys	7.3%	51200
27	244	140	16	platys	27.7%	12800
28	25	37	15	platys	28.2%	12800
29	56	72	21	platys	17.9%	12800
30	156	250	2	platys	9.2%	1600
31	517	880	17	platys	39.3%	12800
32	23	25	30	phago	8.3%	3200
33	6	4	24	NEG	20.9%	25600
34	18	23	5	platys	13.8%	1600
35	82	79	33	platys	45.0%	6400
36	35	27	18	platys	17.1%	3200
37	354	256	26	platys	49.0%	6400
38	6	19	36	NEG	43.9%	25600

39	20	45	20	platys	19.7%	12800
40	60	186	8	platys	1.3%	1600
41	2	1	46	NEG	4.9%	< 1:50 (NEG)

^a Pontuação de Combo foi calculada comparando leituras OD de amostras desconhecidas da placa 1 para uma curva padrão gerada com leituras de OD de um calibrador diluído em série feita de amostras positivas conhecidas analisadas sob as mesmas condições (com populações peptídicas APL-ID1, APL-ID5.1 e APL-ID6).

^b Pontuação de platys foi calculada comparando leituras OD de amostras desconhecidas da placa 2 para uma curva padrão gerada com leituras de OD de um calibrador diluído em série feita de amostras positivas conhecidas analisadas sob as mesmas condições (com populações peptídicas APL-ID5.1 e APL-ID6).

^c Pontuação de WCL de phago foi calculada comparando as leituras de OD de amostras desconhecidas a partir da placa 3 a uma curva padrão de dois pontos composta de resultado de amostra de plasma de um cão saudável (controle negativo) e resulta de uma amostra de plasma de 3-13, um cão infectado experimentalmente com *A. phagocytophilum*, analisadas sob as mesmas condições (com lisado de células inteiras de *A. phagocytophilum*).

^d Identificação da espécie de *Anaplasma* infectando cães em amostras desconhecidas usando a Pontuação de Combo, Pontuação de platys e Pontuação de WCL de phago. As amostras com Pontuação de Combo de 9 ou menor são classificadas como negativas para infecção de *Anaplasma* ("NEG"). As amostras com Pontuações de Combo superiores a 9 são classificadas como positivas para infecção de *Anaplasma* e as espécies de *Anaplasma* infectantes são atribuídas através da comparação da Pontuação de platys com a Pontuação de fago de WCL - amostras com maior pontuação de platys do que pontuação de WCL de phago são classificadas como positivos para infecção por *A. platys* ("platys"), e as amostras com pontuações de platys menores do que pontuações de WCL de phago são classificadas como positivas para infecção de *A. phagocytophilum* ("phago"). Se a pontuação de platys de uma amostra é idêntica à sua pontuação de WCL de phago, e sua pontuação de combo é maior do que 9, a amostra é classificada como positiva para infecção por *Anaplasma* com espécies indeterminadas.

^e Ensaio IDEXX SNAP 4DX Plus™ foi realizado de acordo com as instruções do fabricante. As percentagens foram calculadas através da análise de densitometria das imagens dos cassetes SNAP. Eles representam "(densidade da amostra de teste)/(densidade da amostra de teste + densidade de controle positivo)".

^f O ensaio IFA foi realizado com um kit comercial que utilizou células de *A. phagocytophilum* para detectar anticorpos contra *Anaplasma*. Os títulos de IFA foram determinados por diluição em série de amostras de plasma e de ensaio de cada diluição com células imobilizadas de *A. phagocytophilum*.

[00188] O resultado neste exemplo demonstra que as espécies de *Anaplasma* infectando um sujeito podem ser identificadas com sucesso utilizando as populações peptídicas e extrato celular. Além disso, uma amostra de controle positivo de um cão infectado com *A. phagocytophilum*, 3/13, foi correctamente identificada no presente Exemplo (dados não mostrados).

[00189] Na medida em que quaisquer definições em documentos incorporados por referência são inconsistentes com as definições aqui fornecidas, as definições aqui fornecidas estão no controle. Embora a invenção tenha sido descrita com referência às modalidades presentemente preferidas, deve ser entendido que várias alterações e modificações, como será óbvio para aqueles versados na técnica, podem ser feitas sem afastamento do espírito da invenção. Nesse sentido, a invenção é limitada apenas pelas seguintes reivindicações.

[00190] As divulgações, incluindo as reivindicações, os valores e/ou desenhos, de cada patente, pedido de patente, e publicações aqui citadas são aqui incorporadas por referência na sua totalidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição **caracterizada** pelo fato de compreender uma população de peptídeos isolados, a referida população compreende três ou mais peptídeos diferentes, em que cada peptídeo na população compreende uma sequência de:

(i) SEQ ID NO: 1 ou um fragmento da mesma, em que X₉ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em I, P ou H, X₁₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em I, W ou Y, X₂₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em R, D ou N, X₂₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em E ou N, e X₃₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em L ou V;

(ii) SEQ ID NO: 3 ou um fragmento da mesma, em que X₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em G, I ou H, X₁₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em E, N ou Q, X₁₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em D ou N, X₂₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em R, D ou N, X₂₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em Q, D ou E, X₂₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em E ou N, X₃₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em L ou V, X₄₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em K ou Q, X₄₈ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em F ou V, X₅₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em D ou N, X₅₄ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em E ou Q, X₅₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em S ou Q, X₆₀ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em F ou W, X₆₃ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em I ou V, e X₆₆ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em Q ou D; ou

(iii) SEQ ID NO: 9 ou um fragmento da mesma, em que X₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em V ou A, X₇ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em G, I ou H, X₁₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em E, N ou Q, X₂₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em R, D ou N, X₂₅ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em Q, D ou E, X₂₈ é um

aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em E ou N, e X₃₁ é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em L ou V.

2. Composição de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo fato de que um ou mais dos peptídeos são conjugados com um ligante.

3. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizada** pelo fato de que um ou mais dos peptídeos é conjugado com biotina, avidina, estreptavidina, neutravidina, albumina de soro, hemocianina de lapa californiana (KLH), uma enzima ou um nanomaterial metálico.

4. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizada** pelo fato de que a população de peptídeos é imobilizada num suporte sólido opcionalmente através de uma nanocamada metálica.

5. Composição de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada** pelo fato de que o suporte sólido é uma pluralidade de grânulos, um caminho de fluxo em um dispositivo de imunoensaio de fluxo lateral, um poço numa placa de microtitulação ou um caminho de fluxo num rotor.

6. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizada** pelo fato de que o fragmento é de pelo menos 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 ou 60 aminoácidos de comprimento.

7. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizada** pelo fato de que a composição compreende ainda um ou mais peptídeos antigênicos de uma espécie de *Anaplasma*, uma espécie de *Ehrlichia*, e/ou uma espécie de *Borrelia*.

8. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizada** pelo fato de que a composição compreende pelo menos duas populações diferentes de peptídeos definidos na reivindicação 1.

9. Composição de acordo com a reivindicação 8, **caracterizada** pelo fato de que pelo menos uma das populações de peptídeos é definida por SEQ ID NO: 3.

10. Composição de acordo com a reivindicação 9, **caracterizada** pelo fato de que a composição compreende ainda uma segunda população de peptídeos isolados definidos pela SEQ ID NO: 7 ou um fragmento da mesma, em que X₅ de

SEQ ID NO: 7 é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em S ou Q, X₉ de SEQ ID NO: 7 é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em F ou Y, X₁₃ de SEQ ID NO: 7 é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em R ou H, X₁₆ de SEQ ID NO: 7 é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em W ou Y, X₁₈ de SEQ ID NO: 7 é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em S ou Q, X₂₂ de SEQ ID NO: 7 é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em K ou H, e X₂₇ de SEQ ID NO: 7 é um aminoácido selecionado a partir do grupo que consiste em N ou D.

11. Composição de acordo com a reivindicação 10, **caracterizada** pelo fato de que a composição compreende ainda uma terceira população de peptídeos isolados, em que cada peptídeo compreende a sequência de SEQ ID NO: 6.

12. Composição de acordo com a reivindicação 9, **caracterizada** pelo fato de que a composição compreende ainda uma segunda população de peptídeos isolados, em que cada peptídeo compreende a sequência de SEQ ID NO: 6 ou um fragmento da mesma.

13. Método para detectar numa amostra um anticorpo para um epítipo de um antígeno de *Anaplasma*, o método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

contato de uma amostra com a composição definida em qualquer uma das reivindicações 1-12; e

detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo que compreende um ou mais peptídeos na composição, em que a formação do referido complexo é indicativa de um anticorpo para um epítipo de um antígeno de *Anaplasma* estar presente na referida amostra.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que o referido antígeno de *Anaplasma* é de *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys* ou *Anaplasma marginale*.

15. Método de acordo com qualquer reivindicação 13-14, **caracterizado** pelo fato de que a composição de peptídeos isolados é imobilizada num suporte sólido opcionalmente através de uma nanocamada metálica.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que o referido suporte sólido é uma pluralidade de grânulos, um caminho de fluxo

em um dispositivo de ensaio de fluxo lateral, um poço numa placa de microtitulação ou um caminho de fluxo num rotor.

17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 13-16, **caracterizado** pelo fato de que a referida etapa de detecção compreende (i) realização de um ensaio ELISA, (ii) a execução de um ensaio de fluxo lateral, (iii) realização de um ensaio de aglutinação, (iv) realização de um Western blot, slot blot ou dot blot, (v) realização de um teste de desvio de comprimento de onda, (vi) realização de um teste de anticorpo fluorescente indireto ou (vii) a passagem da amostra através de um rotor analítico ou centrífugo.

18. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 13-17, **caracterizado** pelo fato de que a referida amostra é de um sujeito humano, canino ou felino.

19. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 13-18, **caracterizado** pelo fato de que a referida amostra é uma amostra de sangue, soro, plasma, fluido cerebrospinal, extrato de tecido, urina ou de saliva.

20. Método para o diagnóstico da anaplasmosse num sujeito, o método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

colocar em contato uma amostra do sujeito com a composição definida em qualquer uma das reivindicações 1-12; e

detectar a formação de um complexo anticorpo-peptídeo que compreende um ou mais peptídeos na composição,

em que a formação do complexo é indicativa de o sujeito ter anaplasmosse.

21. Método de acordo com a reivindicação 20, **caracterizado** pelo fato de que o referido sujeito é um humano, canino ou felino.

22. Kit **caracterizado** pelo fato de que compreende a composição como definida em qualquer uma das reivindicações 1-12, e um reagente marcador capaz de se ligar a um anticorpo que reconhece um epítipo de um ou mais peptídeos na composição.

23. Kit de acordo com a reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de que os peptídeos na composição estão ligados ou imobilizados num suporte sólido opcionalmente através de uma nanocamada metálica.

24. Kit de acordo com a reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de que o reagente marcador é um anticorpo de IgG ou IgM anti-canino, anti-felino ou anti-humano conjugado com um marcador detectável.

25. Kit de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de que o marcador detectável é uma enzima, uma nanopartícula metálica, nanoconcha metálica, nanocamada metálica, fluoróforo ou partícula de látex colorida.

26. Kit de acordo com a reivindicação 22, **caracterizado** pelo fato de que o reagente de marcação é a proteína A, proteína G, e/ou uma proteína de fusão de proteína A/G conjugada com um marcador detectável.

27. Kit de acordo com a reivindicação 26 **caracterizado** pelo fato de que o marcador detectável é uma enzima, uma nanopartícula metálica, nanoconcha metálica, nanocamada metálica, fluoróforo ou partícula de látex colorida.

28. Método para identificar as espécies de *Anaplasma* infectando um sujeito, o método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

(a) contatar uma amostra do sujeito com uma primeira população de peptídeos isolados como definidos na reivindicação 1 e uma segunda população de peptídeos isolados, em que a primeira população de peptídeos isolados liga-se especificamente a anticorpos contra antígenos de múltiplas espécies de *Anaplasma*, em que a segunda população de peptídeos isolados liga-se especificamente a anticorpos contra os antígenos de uma única espécie de *Anaplasma*;

(b) detectar a formação de um primeiro complexo anticorpo-peptídeo que compreende um ou mais peptídeos na primeira população; e

(c) detectar a formação de um segundo complexo anticorpo-peptídeo que compreende um ou mais peptídeos na segunda população, em que a formação de ambos os primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com a espécie de *Anaplasma* que é especificamente ligada pela segunda população de peptídeos isolados.

29. Método de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que a primeira população de peptídeos isolados se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum* e *A. platys*.

30. Método de acordo com a reivindicação 29, **caracterizado** pelo fato de que a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3.

31. Método de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado** pelo fato de que a segunda população de peptídeos isolados se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. platys*.

32. Método de acordo com a reivindicação 31, **caracterizado** pelo fato de que a segunda população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 4.

33. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28-32, **caracterizado** pelo fato de que a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 4, e em que a formação de ambos o primeiro e segundo complexos anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com *A. platys*.

34. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 28-32, **caracterizado** pelo fato de que a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3 e a segunda população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 4, e em que a formação do primeiro complexo anticorpo-peptídeo, mas não o segundo complexo anticorpo-peptídeo indica que o sujeito está infectado com *A. phagocytophilum*.

35. Método para identificar as espécies de *Anaplasma* infectando um sujeito, o método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

(a) contatar uma amostra do sujeito com uma primeira população de peptídeos isolados e um extrato de células de uma única espécie de *Anaplasma*, em que a primeira população de peptídeos isolados liga-se especificamente a anticorpos contra antígenos de múltiplas espécies de *Anaplasma*;

(b) detectar a formação de um primeiro complexo anticorpo-peptídeo que compreende um ou mais peptídeos na primeira população; e

(c) detectar a formação de um complexo de extrato de células-anticorpo que compreende um ou mais componentes do extrato celular, em que a formação de ambos o primeiro complexo anticorpo-peptídeo e o complexo de extrato de célula-anticorpo indica que o sujeito está infectado com as espécies de *Anaplasma* que produziram o extrato celular.

36. Método de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado** pelo fato de que a primeira população de peptídeos isolados se liga especificamente a anticorpos contra antígenos de *A. phagocytophilum* e *A. platys*.

37. Método de acordo com a reivindicação 36, **caracterizado** pelo fato de que a primeira população de peptídeos isolados é definida pela SEQ ID NO: 3.

38. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 35-37, **caracterizado** pelo fato de que o extrato de células é de *A. phagocytophilum*.

Figura 1

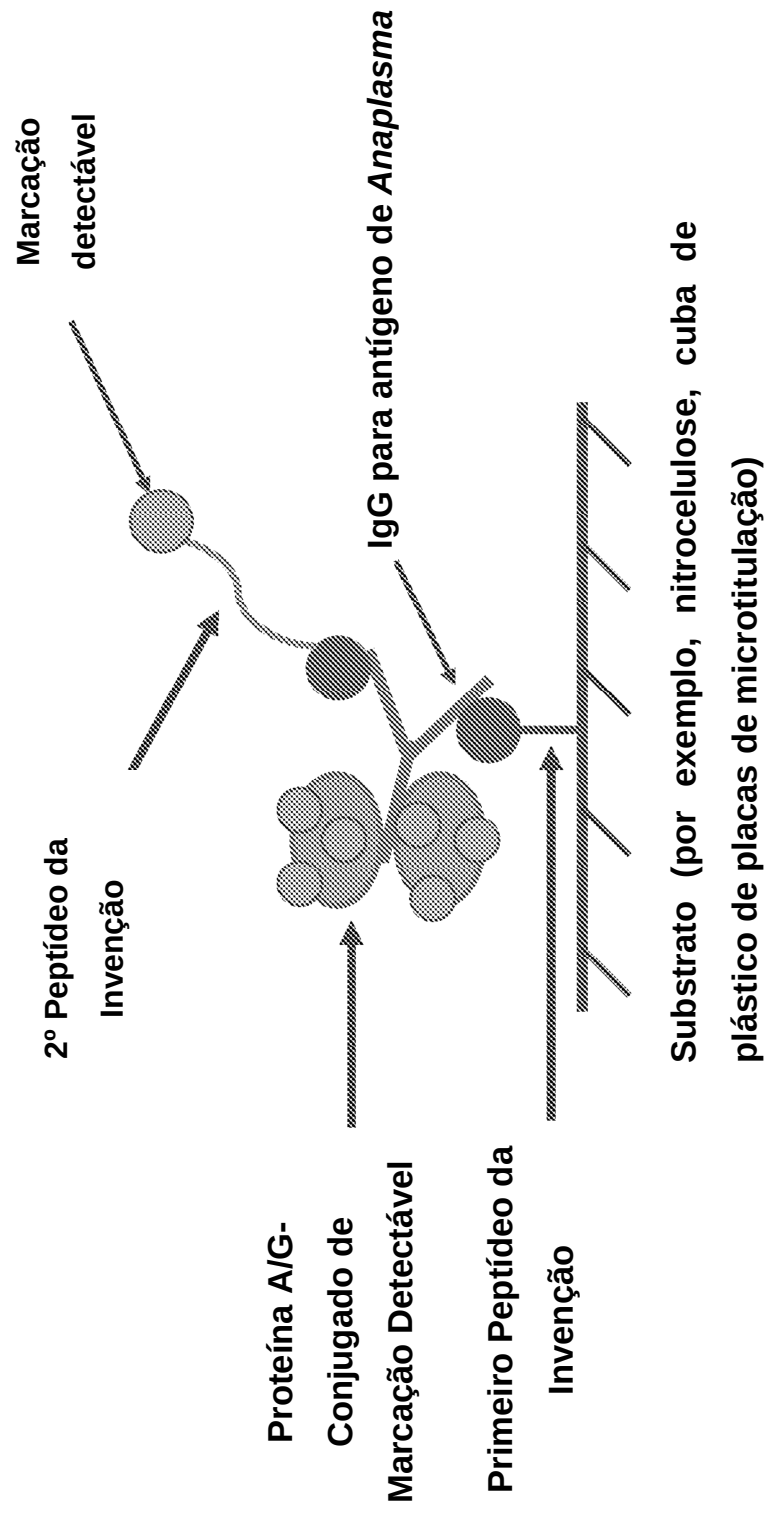


Figura 2

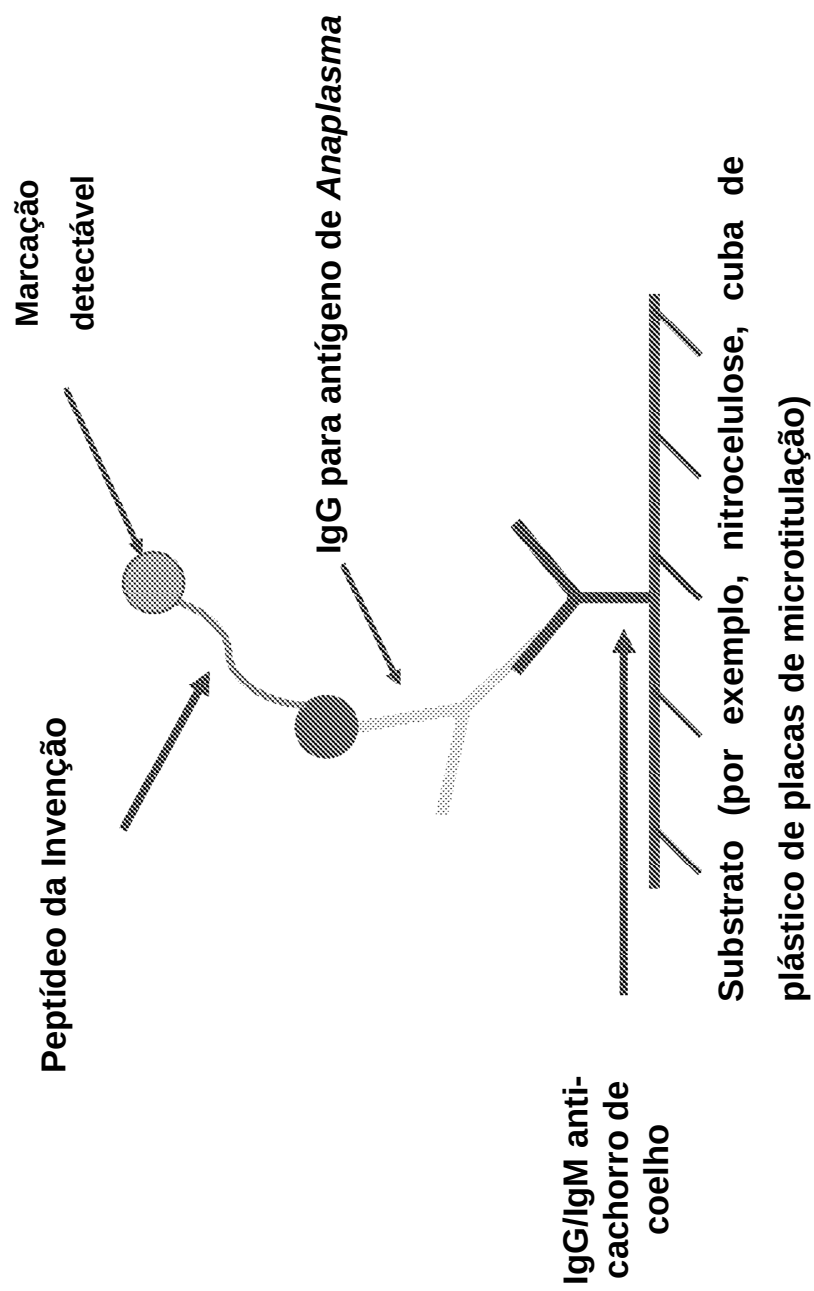


Figura 3

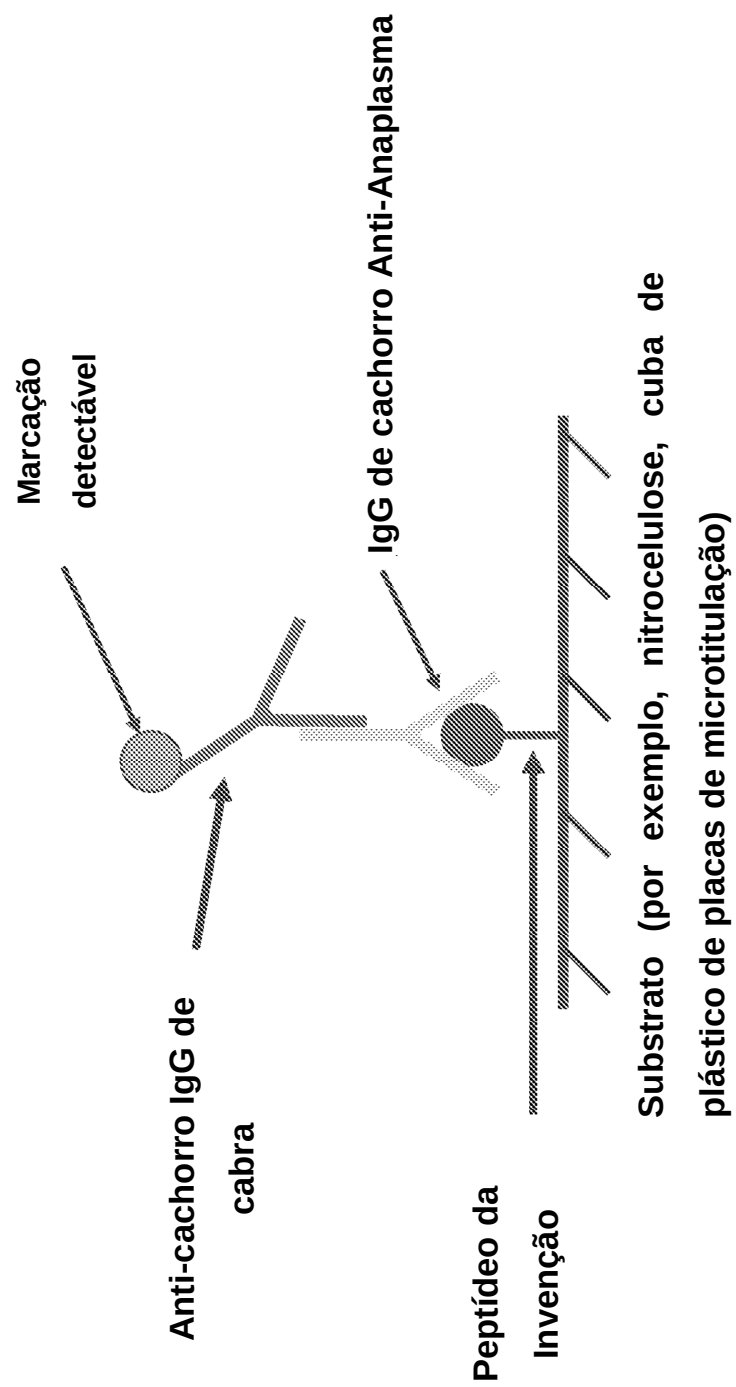


Figura 4

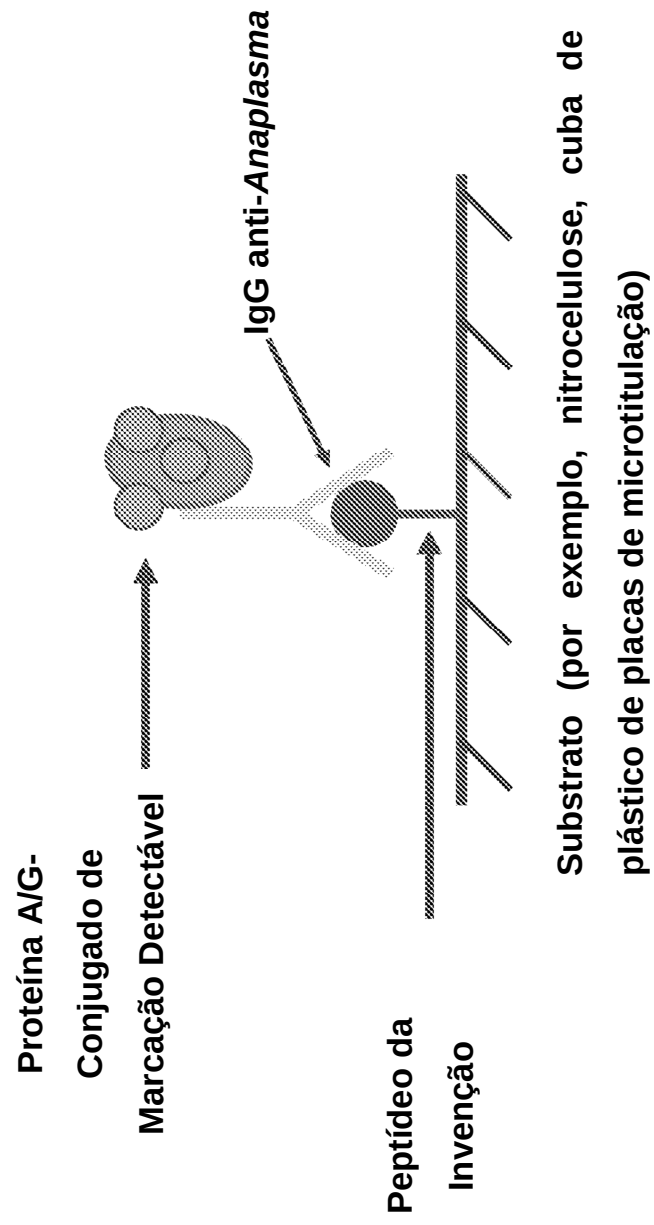


Figura 5

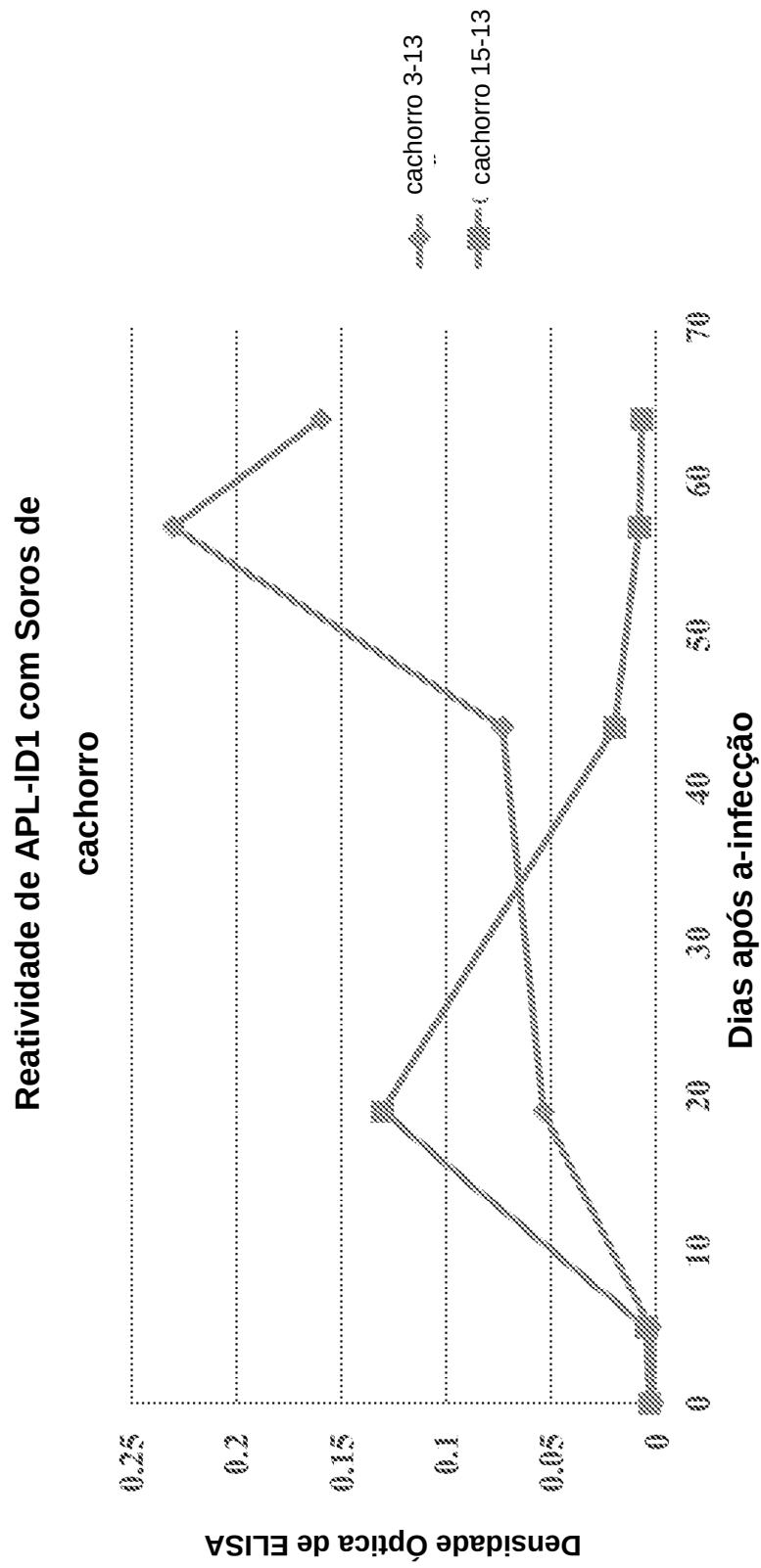


Figura 6

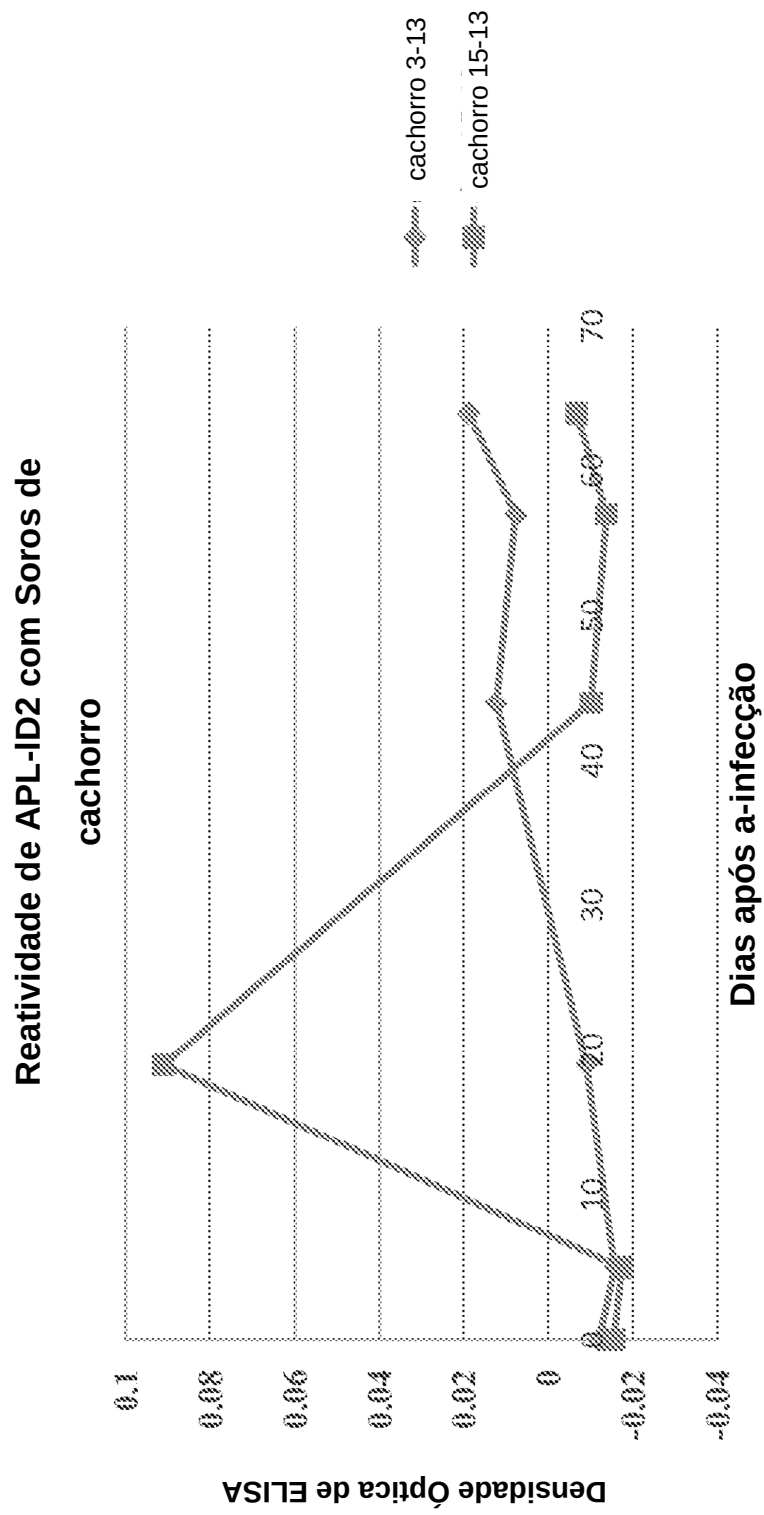


Figura 7

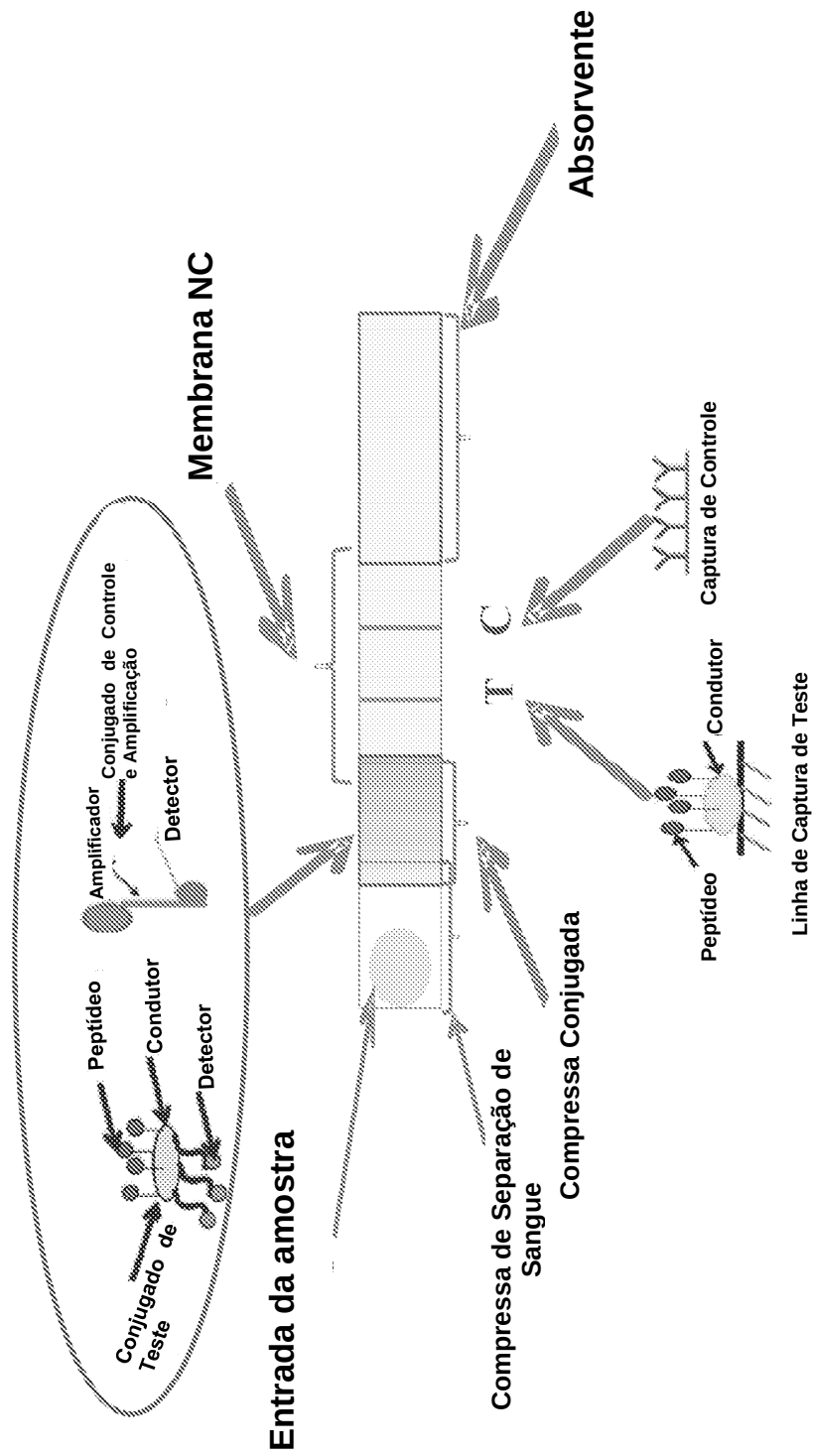


Figura 8

